Aus der II. Inneren Abteilung des Städt. Krankenhauses
Berlin-Neukölln
(Dir. Ärztin: Prof. Dr.med. I. Boll)

Über die Beeinflussung der Immunoblastenkerngrössung von Phytohämagglutinin- und Pokeweed-Mitogen-Kulturen durch die Mitosehemmung mit Demecolcin

Dissertation

zur

Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
am Fachbereich Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Zahnarzt Coppée, Rolf
aus Berlin

1975

Aus der II. Inneren Abteilung des Städt. Krankenhauses
Berlin-Neukölln
(Dir. Ärztin: Prof. Dr.med. I. Boll)

Über die Beeinflussung der Immunoblastenkerngrössung von Phytohämagglutinin- und Pokeweed-Mitogen-Kulturen durch die Mitosehemmung mit Demecolcin

Dissertation

zur

Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
am Fachbereich Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Zahnarzt Coppée, Rolf
aus Berlin

Referent: Frau Prof. Dr. med. Irene Boll

Korreferent: Prof. Dr. med. Hermann Michel

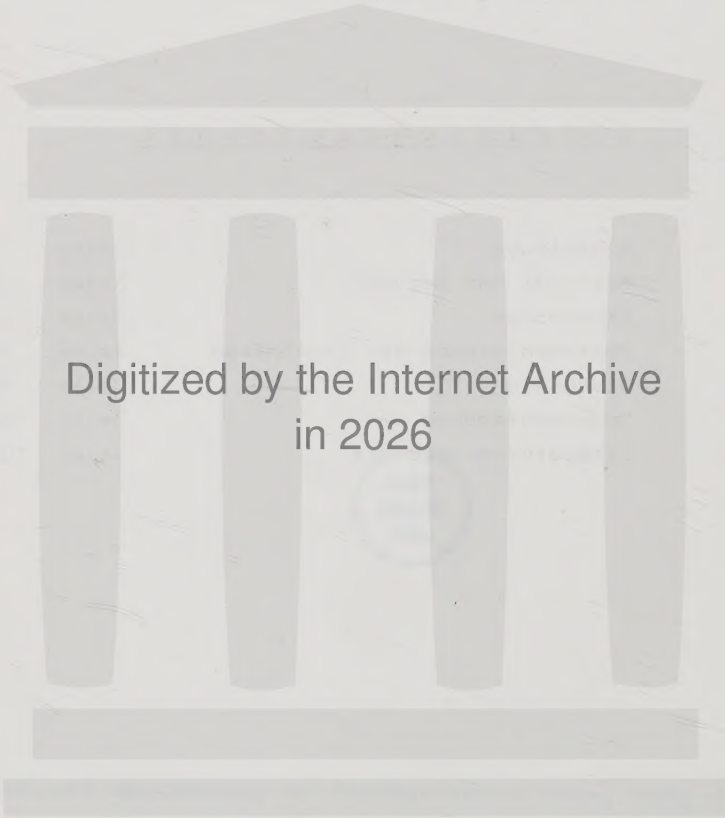
UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 25. November 1975

Inhaltsverzeichnis

Einleitung	Seite	1
Material und Methodik	Seite	8
Ergebnisse	Seite	13
Zusammenfassung der Ergebnisse	Seite	92
Diskussion	Seite	94
Zusammenfassung	Seite	100
Literaturverzeichnis	Seite	102



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546521_0017

Einleitung

Der Lymphozyt ist zweifellos die Blutzelle, deren morphologische Einordnung und funktionelle Bedeutung lange Zeit am ungewissesten war. Erst in den letzten Jahren beginnt sich der Ablauf der Lymphozytopoese aufzuklären.

Früher neigte die Mehrzahl der Hämatologen dazu, den Lymphozyt als das Endprodukt der Reifung der lymphatischen Zellreihe zu betrachten. Nach neueren Arbeiten ist der Lymphozyt imstande, sich weiterzuentwickeln. Er ist somit undifferenziert und hat durchaus die Fähigkeit zur Evolution ("Blastogenese" nach ROBBINS 1964) (39). Somit stellt er keine obligate Endzelle im Sinne der klassischen Hämatologie dar.

Die von MAXIMOW (36) schon 1909 vertretene Auffassung, kleine Lymphozyten könnten sich in "Makrolymphozyten" umwandeln, konnte durch die Arbeiten von NOWELL (37), YOFFEY (45), ELVES und WILKINSON (21) und vielen anderen bestätigt werden.

Mit Hilfe von lymphozytenstimulierenden Substanzen konnten diese Autoren den Nachweis erbringen, daß eine Umwandlung von Blutlymphozyten zu großen proliferierenden Zellen stattfinden kann. Seit NOWELL (37) 1960 beobachtete, daß kleine Lymphozyten in vitro unter dem Einfluß von Phytohämagglutinin (PHA), einer kohlenhydratreichen Substanz aus der grünen Gartenbohne, Phaseolus vulgaris, in stoffwechselaktive, blastenartige Zellen umgewandelt und zu mitotischer Aktivität angeregt werden, ist die Lymphozyten-Transformation in zahlreichen Studien untersucht worden (zuletzt LENNERT 1966 (31), GROPP und FISCHER 1966 (26), AMBS 1969 (3), DOUGLAS 1971 (19), BRITTINGER 1972 (12). Danach werden in vitro 70 - 80 % der kleinen Lymphozyten des Blutes zu großen basophilen Zellen (PHA-Blasten) transformiert.

GROPP und FISCHER (26) beschreiben die großen Zellen:

"In Anwesenheit von Phytohämagglutinin wandeln sich die kleinen Lymphozyten vom 1. - 3. Züchtungstag in große Zellen von blastenähnlichem Aussehen um. Sie weisen einen großen, locker strukturierten Zellkern mit einem meist sehr großen, unregelmäßig gestalteten Nucleolus, manchmal auch zwei bis drei Nucleolen auf. Kennzeichnend für diese Zellen ist eine starke Basophilie des Cytoplasmas, das einzelne Vacuolen und eine Ausfransung als Zeichen einer lebhaften Motilität der Plasmamembran aufweist."

Auch ASTALDI (5) u.a. beobachtete in Blutkulturen mit PHA-Zusatz nach 2 - 3 Tagen eine Größenzunahme der Lymphozyten und eine Umwandlung erst in Prolymphozyten und dann in Lymphoblasten.

Die Entstehung von basophilen Lymphoblasten aus den Lymphozyten scheint also gesichert (26, 8). Mit Hilfe von autoradiographischen Untersuchungen haben QUAGLINO und HAYHOE (31) die DNS- und RNS-Synthese während der Entwicklung von Lymphozyten zu Immunoblasten beobachtet. Ihre Ergebnisse zeigen, daß unter dem Einfluß von Phytohämagglutinin die DNS- und RNS-Synthese mit Stimulierungsdauer gesteigert wird und in besonders starkem Maße in den großen Immunoblasten vorhanden ist. Damit sind die Voraussetzungen für eine mögliche mitotische Zellteilung der Immunoblasten geschaffen.

Neben verschiedenen anderen Stimulantien führt auch Pokeweed-Mitogen (PWM), ein Glykoprotein aus der Kermesbeere Phytolacca americana, zu einer Lymphozytentransformation (DOUGLAS u.a. 1967) (18). Histologische und radioautographische Untersuchungen an stimulierten Pokeweed-Kulturen zeigten, daß nach 72 Stunden 50 - 60 % aller Lymphozyten in große Zellen umgewandelt waren (14).

In PWM-Kulturen normaler Lymphozyten fanden sich nach 3 - 5 tägiger Inkubation neben kleinen, nicht transformierten Lymphozyten PHA-ähnliche Blasten und Plasmazellen (10 - 20 %). Die Ultrastruktur der unter dem Einfluß von Pokeweed-Mitogen entstandenen Blasten glich derjenigen transformierter Zellen in Phyto-stimulierten Lymphozyten-Kulturen (15).

In Analogie zu tierexperimentellen Befunden lassen sich beim Menschen zwei Lymphozytenpopulationen unterscheiden, nämlich die thymusabhängigen T-Lymphozyten und die knochenmarkabhängigen B-Lymphozyten (GREAVES u.a. 1973) (23). Aus den thymusabhängigen Lymphozyten im peripheren Blut und im Thymus selbst lassen sich fünf verschiedene Zelltypen isolieren, die jüngst (1974) physikalisch, biochemisch und immunbiologisch charakterisiert wurden. K. ZEILLER (47) und Mitarbeiter konnten mit Hilfe der trägerfreien Elektrophorese die verschiedenen Untergruppen der T-Lymphozyten darstellen.

Untersuchungen von GREAVES und JANOSSY (24) an Kulturen gereinigter T- und B-Lymphozyten der Maus haben auf die unterschiedliche Beeinflußbarkeit der beiden Lymphozyten-Populationen durch die Mitogene Pokeweed und Phytohämagglutinin hingewiesen. Danach aktiviert Phytohämagglutinin vorwiegend T-Zellen, während durch Pokeweed-Mitogen sowohl T- als auch B-Lymphozyten stimuliert werden. Ähnliche Befunde sind kürzlich auch für menschliche T- und B-Zellen erhoben worden (GREAVES u.a. 1974) (25). Im Blut gesunder Normalpersonen sind von den Gesamtlymphozyten 45 - 80 % als T-Lymphozyten und ca. 15 - 32 % als B-Lymphozyten nachzuweisen. Für eine Aktivierung beider Populationen durch Pokeweed-Mitogen sprechen auch elektronen-mikroskopische Untersuchungen von DOUGLAS (1967) (18).

Phytohämagglutinin und Pokeweed-Mitogen sind nicht die einzigen Stoffe, die die Stimulierung bei den Lymphozyten hervorrufen können. AMBS (3) unterscheidet zwei Arten von

Stimulierungen: Auf der einen Seite die unspezifische Stimulierung, zu der neben Phytohämagglutinin und Pokeweed-Mitogen auch z.B. Proteine aus Vicia faba, Robina pseudo-acacia, ferner Streptolysin S, Staphylokokkenexotoxin und Quecksilber-II-chlorid zählen, auf der anderen Seite die spezifische Stimulierung, die nur möglich ist, wenn der Patient oder das Versuchstier für die entsprechenden Agentien eine bestimmte Vorgeschichte aufweist, sich also mit dem entsprechenden Antigen auseinandergesetzt hat. Genannt seien hier Tuberkulin, Keuchhustenvaccine, Di- und Tetanustoxoid, Streptolysin O, u.a.

Es stellt sich nun die Frage, ob diese nach Lymphozytenstimulierung entstandenen basophilen Zellen, die wir nach DAMESHEK(17) als Immunoblasten bezeichnen wollen, als Endzellen der Stimulation zu betrachten sind, oder ob sie weiter entwicklungsfähig sind und gegebenenfalls Tochterzellen hervorbringen können.

Verschiedene Autoren wie MARSHALL und ROBERTS (34), ELVES und WILKINSON (21), TSUTSUI (44) und COOPER (16) sehen Lymphozyten aus Immunoblasten entstehen.

GROPP und FISCHER (26) hingegen sind der Ansicht, daß die Immunoblasten nach dem 5. - 7. Züchtungstag zugrunde gehen.

BOLL, KRETSCHMER und FLIEDNER (9) berichten von der Entstehung von morphologisch phasenoptisch als Lymphozyten imponierenden vitalen Zellen aus den durch Phytohämagglutinin induzierten Blasten am 3. Tag nach Ansetzen der Blutkultur.

Auch LENNERT (31) meint, Zellen vom Aussehen der Immunoblasten (Makrolymphozyten) können sich nach unseren heutigen Kenntnissen offenbar in Lymphozyten und Plasmazellen weiterentwickeln.

AMBS (3) schreibt dazu: "Wahrscheinlich können sich die "Blasten" auch wieder zu kleinen Lymphozyten teilen." Diese Vermutung konnte JONASSON (29) in seiner Dissertation 1973 durch Kernmessung im gefärbten Ausstrich bestätigen.

Morphologisch läßt sich also unter dem Einfluß von Phytohämagglutinin und Pokeweed-Mitogen folgende Entwicklungsreihe beobachten:

Die meisten der kleinen Lymphozyten wandeln sich bis zum 2. oder 3. Tag nach Ansetzen der Kultur über Prolymphozyten in Immunoblasten um. Diese zeigen durch vermehrte RNS- und DNS-Synthese eine starke Mitoseaktivität. Das vermehrte Auftreten von Mitosen der lymphatischen Elemente in Blutkulturen unter dem Einfluß von Phytohämagglutinin und Pokeweed-Mitogen wurde von vielen Autoren beobachtet (5, 27, 35, 37).

AMBS (3) konnte bei Hemmung mit Colchicin, einem Alkaloid der Herbstzeitlosen, schon zwischen der 42. und 48. Stunde Mitosen nachweisen, deren Anzahl sich zwischen der 55. und 72. Stunde erhöht, danach meist aber erst ein Maximum erreicht.

Über die Wirkungsweise des Colchicins und seiner Derivate ist in der Literatur viel geschrieben worden. Ein Überblick über die Resultate der Untersuchungen mit Colchicin geben die Veröffentlichungen von DUSTIN (20), ASTALDI und MAURI (4), LETTRÉ (32), ALBRECHT (1, 2), BOLL (10, 11), POWELL (38), TAYLOR (42) und THOMSON (43) u.a.

An dieser Stelle soll nur kurz auf die wichtigsten Ergebnisse eingegangen werden:

Nach Untersuchungen von SCHÄR, LOUSTALOT und GROSS (40) an Gewebekulturen von Hühnerosteoblasten bewirkt das von SANTAVY und REICHSTEIN aus Colchicum autumnale isolierte

Nebenalkaloid Demecolcin (Colcemid) eine Hemmung der Zellteilung in gleicher Weise wie Colchicin, indem es die Ausbildung der Teilungsspindel während des Kernteilungsvorganges verhindert und die Mitose in der frühen Metaphase arretiert. Hierdurch nähert sich die Mitosedauer gegen unendlich. Im fixierten Präparat läßt sich somit durch Mitosezählung ein Urteil über die in der verflossenen Zeit in die Mitose eingetretenen Zellen bilden, vorausgesetzt, die Mitosehäufigkeit und die konstante Dauer der gehemmten Mitosen werden durch das Colchicin nicht beeinflußt.

Nach DUSTIN (20), LETTRÉ (32), LUDFORD (33), ASTALDI (4), EVANS (22) u.a. wird durch Colchicin der Eintritt der Zellen in die Mitose, also die Mitosehäufigkeit, nicht beeinträchtigt. Die Häufigkeit der Mitosen, auf teilungsfähige Zellen bezogen, wird als Mitoseindex bezeichnet und in %o angegeben.

ASTALDI und MAURI (4), später auch BOLL und ALBRECHT (2), verwendeten Colchicin als Stathmokinetikum, um im Knochenmark in vitro die proliferative Tätigkeit der verschiedenen Zelltypen zu unterscheiden. Sie betrachteten die Hemmung der Erythroblastenmitosen durch Colchicin als Maß für die Proliferation der roten Reihe. Nach ASTALDI ist die Mitosehemmung des Colchicins der Mitoseaktivität der Erythropoese des betreffenden Knochenmarks direkt proportional. Die Erhöhung des Mitoseindex durch Colchicin bezeichnete er als "stathmokinetischen Effekt". ASTALDI nahm an, daß die Colchicin-Mitose unendlich lange dauert. Diese Vermutung konnte sich jedoch nicht bestätigen, da bei unendlich langer Colchicin-Mitosedauer und zunehmender Kulturdauer immer mehr Mitosen auftreten müßten, d.h. der Mitoseindex immer größer werden müßte. Stattdessen fällt er aber bei allen Untersuchungen um die 18. Kulturstunde ab.

Das Abfallen des Mitoseindex kommt zustande, sobald mehr

Mitosen absterben, als neue Zellen in Mitose gehen. Da die ersten Mitosen in der Kultur nach ca. 6 Stunden auftreten und der Mitoseindex ab der 18. Stunde abfällt, ergibt sich eine maximale Colchicin-Mitosedauer von 12 Stunden; diese Mitosedauer wurde u.a. von BOLL (7), STUBBLEFIELD (41) und EVANS (22) nachgewiesen. Der Mitoseindex verkleinert sich nach 18 Stunden nur geringfügig, weil sich das Absterben der Mitosen und die Neuentstehung von Mitosen zu diesem Zeitpunkt fast die Waage halten.

Ein weiterer Beweis gegen die unendlich lange Dauer der Colchicin-gestoppten Mitose ist die Entstehung von pathologischen Zellen unter Colchicin-Einwirkung (1).

In dieser Arbeit soll versucht werden, die von vielen Autoren beobachtete Proliferation der Immunoblasten zu kleineren Tochterzellen nachzuweisen. Mit Hilfe stimulierender Substanzen - Phytohämagglutinin und Pokeweed-Mitogen - soll das Auftreten von Immunoblasten induziert werden. Durch Zusatz vom Mitosegift Colcemid soll die postulierte Teilung der Immunoblasten im Ausstrichpräparat sichtbar gemacht und mit den Ausstrichpräparaten der stimulierten Kontrollkulturen verglichen werden. Durch Blockierung der Mitosen dürften in den Colcemid-Kulturen im Vergleich mit den Kontrollkulturen keine kleineren Immunoblasten bzw. Lymphozyten bei längerer Beobachtungsdauer mehr auftreten.

Wir stellen uns daher die Aufgabe:

1.) Die Kerngrößen bis zur 240. Stunde zu messen,

2.) die Angaben von AMBS, TSUTSUI, MARSHALL, COOPER, ELVES und WILKINSON über Immunoblastenumwandlung aus Blutlymphozyten am Menschen nachzuprüfen,

3.) die Mitosehäufigkeit (Mitoseindex) und die Mitosephasenverteilung in den Kulturen festzustellen.

Material und Methodik

Die Kernmessungen, die Bestimmung von Mitoseindices und Mitosephasen wurden anhand morphologischer Auswertungen von 24 Kulturen bis zu 10 Tagen von neun Patienten durchgeführt, von denen im Blut fünf hämatologisch keine besonderen Auffälligkeiten boten, zwei an einer Mononucleosis infectiosa und zwei an einem Lymphosarkom litten. Die Reihenfolge der Versuche wurde nach der Stimulierungsart (PWM bzw. PHA) gewählt, wobei die drei Doppelversuche an den Anfang gestellt wurden.

Die Blutkulturen wurden nach der von BOLL (1970) angegebenen, inzwischen etwas modifizierten Methode hergestellt: Das Venenblut wird vom Patienten in einer mit Heparin (Liquemine-Originallösung) befeuchteten 20-ml-Spritze abgenommen. Davon wurde sofort ein Tropfen auf Objektträger ausgestrichen und nach Trocknung nach PAPPENHEIM gefärbt.

Das heparinisierte Venenblut wird in einem 50-ml-Röhrchen für einige Stunden bei 37° C aufbewahrt. Das dann überstehende Plasma wird abpipettiert und in der Schilling'schen Kammer gezählt. Zur Einstellung des Kulturmediums auf 2-3000 Leukozyten/μl wird das leukozytenhaltige Plasma mit TC-Medium-Eagle-Lösung auf 10 ml aufgefüllt, mit 2 Tropfen Phytohämagglutinin der Fa. Difco bzw. mit 2 Tropfen Pokeweed-Mitogen der Fa. Barker & Farnes und 5 Tropfen einer 0,9 %-igen Kochsalzlösung (2 mg Binotal und 400 μg/ml Streptothenat) versetzt. Dieser Kulturansatz wird in 25-ml-Kölbchen gegeben, um eine möglichst große Gasphase über der Flüssigkeitskultur zu erhalten, und bei 37° C im Brutschrank inkubiert.

Nach zwei Tagen werden dem Kulturansatz 2 Tropfen (≙ 0,02 ml) Colcemid der Fa. Ciba in folgender Verdünnung zugesetzt: 1 ml Colcemid wird auf 500 ml Aqua bidest gegeben und mit 5 Tropfen einer 0,9 %-igen Kochsalzlösung versetzt; 1 ml dieser Lösung wird nochmals mit 50 ml Aqua bidest verdünnt. Das Colcemid liegt somit in einer 0,004 %-igen Lösung vor.

Entsprechend den vorgegebenen Zeitabständen werden der Kultur Proben entnommen und bei 17 g 10 Minuten lang zentrifugiert. Vom Sediment wird ein Ausstrich angefertigt und nach Trocknung nach PAPPENHEIM gefärbt.

Da die einzelnen Präparate verschiedene Qualität aufwiesen, haben wir jeweils die besseren ausgewertet. So wurden 21765 Zellen ausgezählt und davon 20210 Zellen ausgemessen.

Beim Ausmessen bevorzugten wir im O-Std.-Präparat quer durch die Mitte des Präparates zu fahren, wobei Zellen in Rand- und Mittelpartien zur Ansicht kamen und bei den Kulturpräparaten die Randgebiete, da dort die Zellen lockerer liegen als in der Mitte, wo wir pyknotische, undifferenzierbare Zellen finden.

Zur Ausmessung haben wir die direkte Methode am Mikroskop ausgewählt, da sie einfacher und nicht so zeitraubend ist wie die indirekte Methode anhand von Photographien.

Die Messung der Zellkerne erfolgte mit Hilfe eines Lichtmikroskops (ZEISS) durch ein Kpl-Okular (ZEISS, 12,5 x) und ein Ölimmersionsobjektiv (ZEISS, 100 x). Die Eichung des Okularmikrometers (ZEISS) mit dem Objektmikrometer (LEITZ) ergab folgendes:

100 Teilstriche des Okularmikrometers =
14 Teilstriche des Objektmikrometers, d.h.

1 Teilstrich des Okularmikrometers entspricht 1,4 μ . So erhielten wir Meßgrößen in Abständen von 1,4 μ .

Es wurden 1. Summenkurven, d.h. die Größenverteilung aller Kerne einer bestimmten Stichprobe aufgezeichnet und 2. Diagramme von Zellen bestimmter morphologischer Kriterien angefertigt.

Es wurden folgende Zellen differenziert:

Lymphozyt: Der dunkle, rotviolette Kern des Lymphozyten ist rund, seltener oval oder eingebuchtet. Er ist schollig strukturiert. Das hellblaue Protoplasma umgibt ihn nicht immer vollständig und kann manchmal nur in sehr spärlichen Resten vorhanden sein.

Virozyt: Als Virozyt werden alle Lymphozyten, die azurophile Granula im Protoplasma aufweisen, bezeichnet.

Lymphoidzelle: Es werden zwei Arten von Lymphoidzellen unterschieden: Einmal die hellen, großen bzw. kleinen Lymphoidzellen mit einer lockeren, fast schwammartigen porösen Kernstruktur, 3-6 Nukleoli und relativ viel, hellem, schwach basophilem, zerfließlichem und zum Teil vakuolisiertem Protoplasma.

Zum anderen finden sich stark basophile, große bzw. kleine Lymphoidzellen mit dichterer Kernstruktur und relativ breitem Protoplasma. Während die großen Lymphoidzellen große Nukleoli besitzen, stellt sich der Kern der kleinen lymphozytenähnlich, kompakt und meist ohne Nukleoli dar.

Die herausgestellten Formen sind jedoch nur immer wieder anzutreffende Häufungen innerhalb von Zellreihen mit allen Übergängen und Zwischenformen.

Diese zwei Arten wurden beide gemeinsam als Lymphoidzellen differenziert.

Stimulierter Lymphozyt:

Im Vergleich zum Lymphozyten ist sowohl der Kern als auch das Protoplasma größer und letzteres dunkler basophil. Der Kern ist dunkler violett, enthält 2-3 dichte Nukleoli und kann verschiedene Formen annehmen: rund, länglich und oval. Das Protoplasma umgibt den Kern nicht immer an allen Seiten.

Immunoblast: Der Kern ist dunkelviolett und locker netzig strukturiert. Er liegt exzentrisch im hell- bis dunkelbasophilen Protoplasma und weist deutlich

erkennbare Nukleoli auf. Relativ oft finden sich eine oder mehrere kleine bzw. große Vakuolen im Protoplasma.

Retikulumzelle: Die in der Regel runden oder auch ovalen, großen Kerne der Retikulumzellen sind sehr locker netzig strukturiert und weisen meist 2 - 3 Nukleoli auf. Ihr Protoplasma ist von zarter hellblauer oder -rosa Farbe und nach außen oft so undeutlich abgegrenzt, daß die Größe der Zelle nicht zu bestimmen ist. Oft liegen die Kerne nackt da, weil sie beim Ausstreichen vom Protoplasma getrennt werden.

Die Unterscheidung zwischen beschädigten, großen Immunoblasten und Retikulumzellen fällt oft nicht leicht, da die Kerne der größeren Immunoblasten immer mehr ein retikuläres Aussehen annehmen.

Die Differenzierungsmerkmale wurden nach BOLL, JORKE und von RIESEN/ALBRECHT zusammengestellt.

Um die Beeinflussung der Mitosehäufigkeit durch Colcemid festzustellen, wurden alle Zellteilungen, die in den ausgezählten Gesichtsfeldern entdeckt wurden, in ihren verschiedenen Phasen registriert.

Wir unterscheiden nach BOLL (7) folgende Mitosephasen:

1. Prophase: Die Kernmembran und die Nukleolen sind aufgelöst, die Chromosomen als dichte Fäden in festem Spirem mit hellen Zwischenräumen sichtbar.

2. Frühe Metaphase: Die Chromosomen liegen ungeordnet im lockeren Spirem über die Zelle verteilt.

3. Späte Metaphase: Stadium der Äquatorialplatte, die in der Aufsicht als Monaster mit sternförmig angeordneten Chromosomen erkennbar ist.

4. Anaphase: Die Chromosomen sind in zwei Gruppen angeordnet und bilden einen Diaster.

5. Telophase: Eine deutliche Einschnürung des Protoplasmas ist erkennbar. Die Chromosomen der Tochterzellen liegen in beiden Zellhälften als lockeres Dispirem.

6. Rekonstruktionsphase: Zwischen beiden sich spiegelbildlich gleichenden Tochterzellen ist gelegentlich noch ein kleiner Plasmafaden erkennbar. Die Chromosomen beider Zellen liegen in festem Dispirem, Kernmembran und Nukleolen sind noch nicht wieder ausgebildet.

Ergebnisse

Versuch I: Phytohämagglutinin-Kultur des Venenblutes der Patientin P., 78 Jahre.

Diagnose: Stenocardien bei Verdacht auf Vorderwandnarbe, Diabetes mellitus, Hypertonus.

Laborbefunde:

Leukozyten:	8200/µl	Erythrozyten:	4,6 Mio/µl
Stabkernige:	2 %	Hb:	13,9 g%
Segmentkernige:	77 %	HbE:	30,2 pg
Lymphozyten:	17 %		
Eosinophile:	1 %		
Monozyten:	3 %		

Erklärung zu den Abbildungen:

Abb. 1: Summenkurven aller gemessenen Zellkerne der Stichprobe.

Abb. 1a: Summenkurven aller gemessenen Zellkerne der Stichprobe mit Colcemid-Zusatz.

Abb. 2: Die verschiedenen,gemessenen Zellarten nach den gegebenen Zeitabständen:

Lymphozyten,
Lymphoidzellen,
Virozyten,
Stimulierte Lymphozyten,
Immunoblasten,
Retikulumzellen.

Abb. 2a: nach dem 3. d

Abb. 2b: nach dem 6. d

Abb. 2c: nach dem 8. d

Abb. 2d: nach dem 10. d

Abszisse: Kerngrößen-Durchmesser in μ ,
Ordinate: Häufigkeit in %.

PH = Phytohämagglutinin
C = Colcemid-Zusatz
d = Tage.

Versuch I:

Die Summenkurven ohne Colcemid-Zusatz (Abb. 1) lassen folgenden Verlauf erkennen: Im O-Std.-Präparat finden sich Zellen mit einem Kerndurchmesser von 7 μ in der Mehrzahl. Am 6. d kommt es zur Verkleinerung der Zellen auf 7 μ , nachdem am 3. d und später (8. d und 10. d) die Gipfel der Zellkernmessungen bei größeren Durchmessern liegen. Diese Verkleinerung entfällt bei Colcemid-Zusatz.

Die Kurven der verschiedenen, gemessenen Zellarten lassen folgendes erkennen: Im O-Std.-Präparat (Abb 2) sind viele Lymphozyten (81,5 %) und einige Lymphoidzellen (17 %) differenziert worden, deren Gipfel bei 7 μ bzw. 8,4 μ liegen. Die Kurve der Virozyten (1,5 %) verläuft dagegen flach.

In den Präparaten des 3. d (Abb. 2a) sind nur noch wenige Lymphozyten vorhanden (Gipfel bei 5,6 μ), dafür aber stimulierte Lymphozyten (mit C = 4,6 %; ohne C = 13,2 %) und viele Immunoblasten (mit C = 85,8 %; ohne C = 73,9 %) mit Gipfeln bei 9,8 μ . Außerdem sind noch Retikulumzellen (mit C = 6,8 %; ohne C = 5,8 %) zu erkennen.

Am 6. d (Abb 2b) sehen wir im Ausstrich ohne Colcemid-Zusatz kleinere Immunoblasten (Gipfel bei 7 μ) und Retikulumzellen (Gipfel bei 9,8 μ), während im Ausstrich mit Colcemid-Zusatz die Immunoblasten einen Gipfel von 9,8 μ zeigen.

Am 8. d (Abb. 2c) finden sich wieder größere Immunoblasten. Die Gipfelpunkte liegen folgendermaßen: Ohne C bei 8,4 μ , mit C bei 9,8 μ . Die Kurve der Retikulumzellen mit C verläuft flach, zeigt aber zwei Gipfel bei 9,8 und 12,6 μ .

Im Präparat des 10. d (Abb 2d) liegen die Höhepunkte wie folgt: Immunoblasten (mit C bei 8,4 und 9,8 μ , ohne C bei 9,8 μ), Retikulumzellen ohne C-Zusatz bei 9,8 μ .

Mitoseindices und Mitosephasen-Verteilung zeigen Tab. 1 und Fig. I. Alle Mitosen der mit Colcemid versetzten Kultur haben im Gegensatz zur Kontrollkultur das Stadium der Metaphase nicht überschritten. Der Mitoseindex steigt bis zum 6. Kulturtag auf einen maximalen Wert von 76 ‰ an, fällt dann jedoch wieder ab.

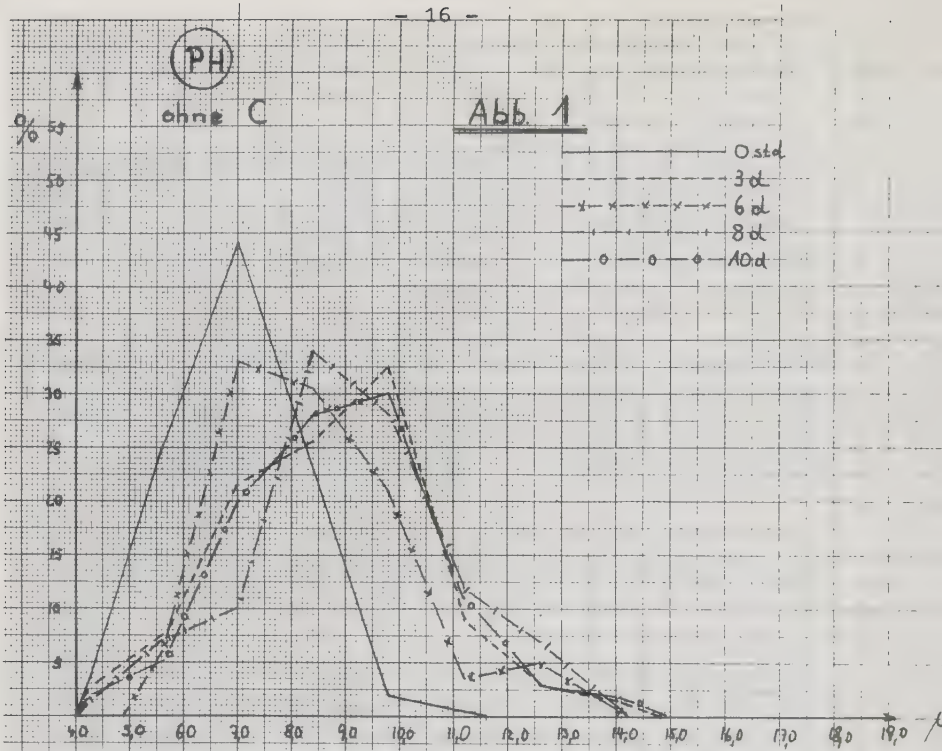

PH
ohne C
%
0 std
3 d
6 d
8 d
10 d
4,0
5,0
6,0
7,0
8,0
9,0
10,0
11,0
12,0
13,0
14,0
15,0
16,0
17,0
18,0
19,0

Abb. 1

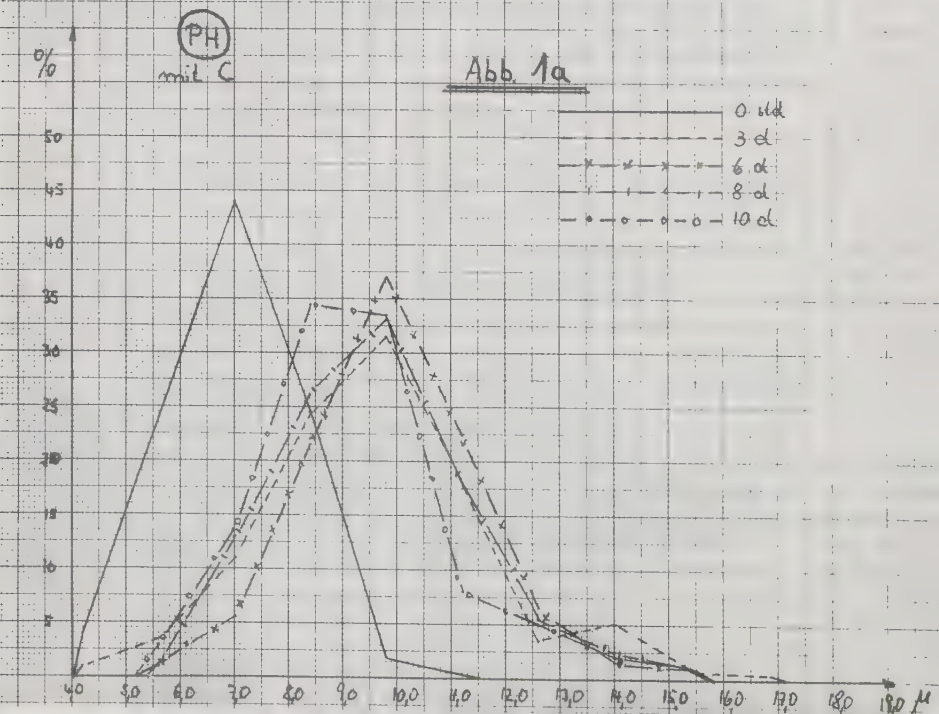
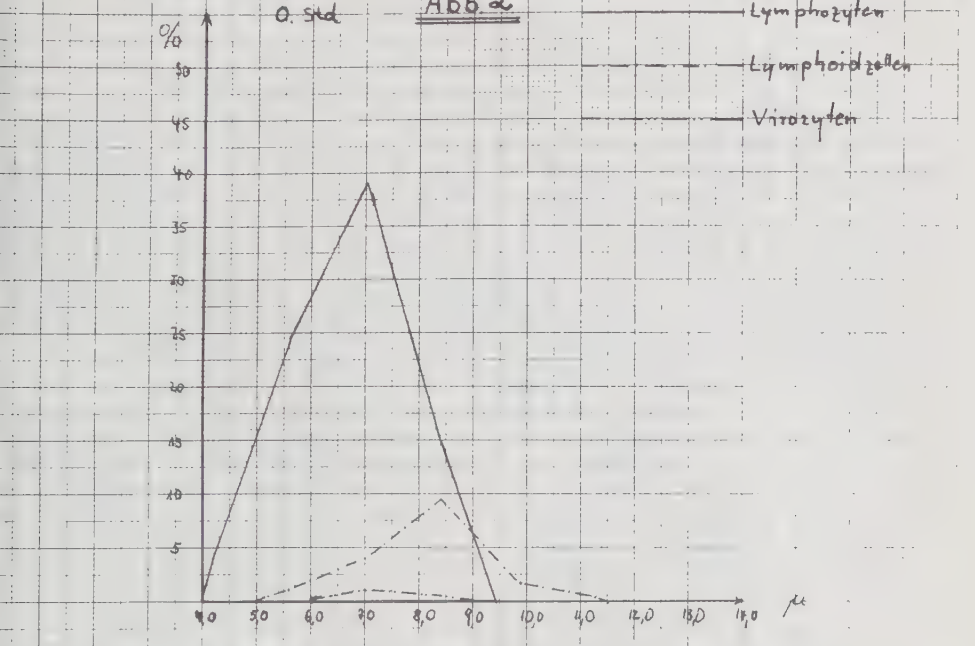
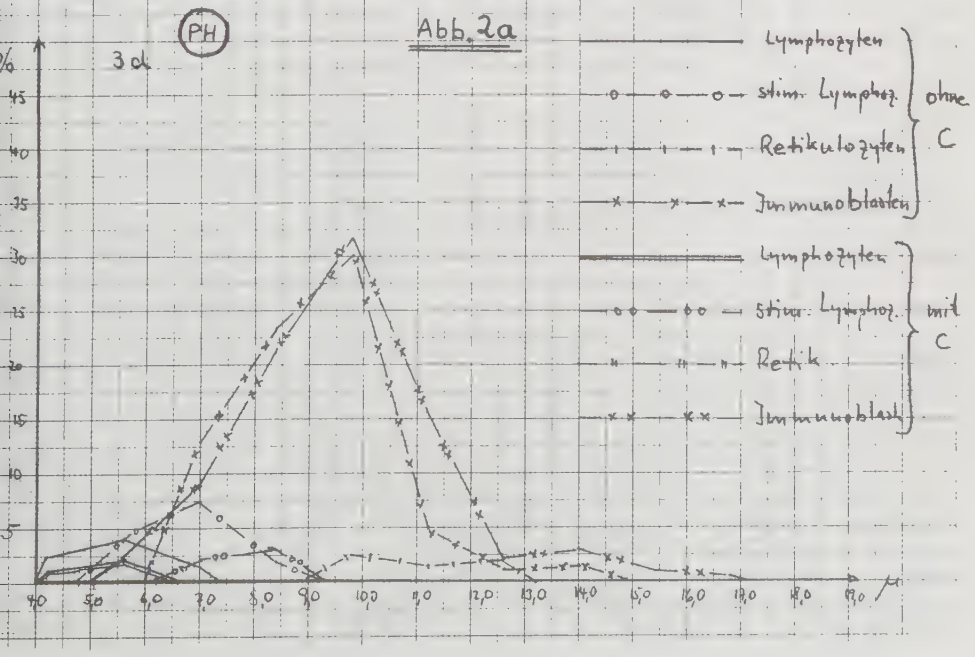

PH
mit C
%
0 std
3 d
6 d
8 d
10 d
4,0
5,0
6,0
7,0
8,0
9,0
10,0
11,0
12,0
13,0
14,0
15,0
16,0
17,0
18,0
19,0

Abb. 1a


0. Std
Abb. 2
%
Lymphozyten
Lymphoidzellen
Virozyten
µ


PH
Abb. 2a
3 d.
%
Lymphozyten
stim. Lymphoz.
Retikulozyten
Immunoblasten
ohne C
Lymphozyten
stim. Lymphoz.
Retik.
Immunoblast.
mit C
µ

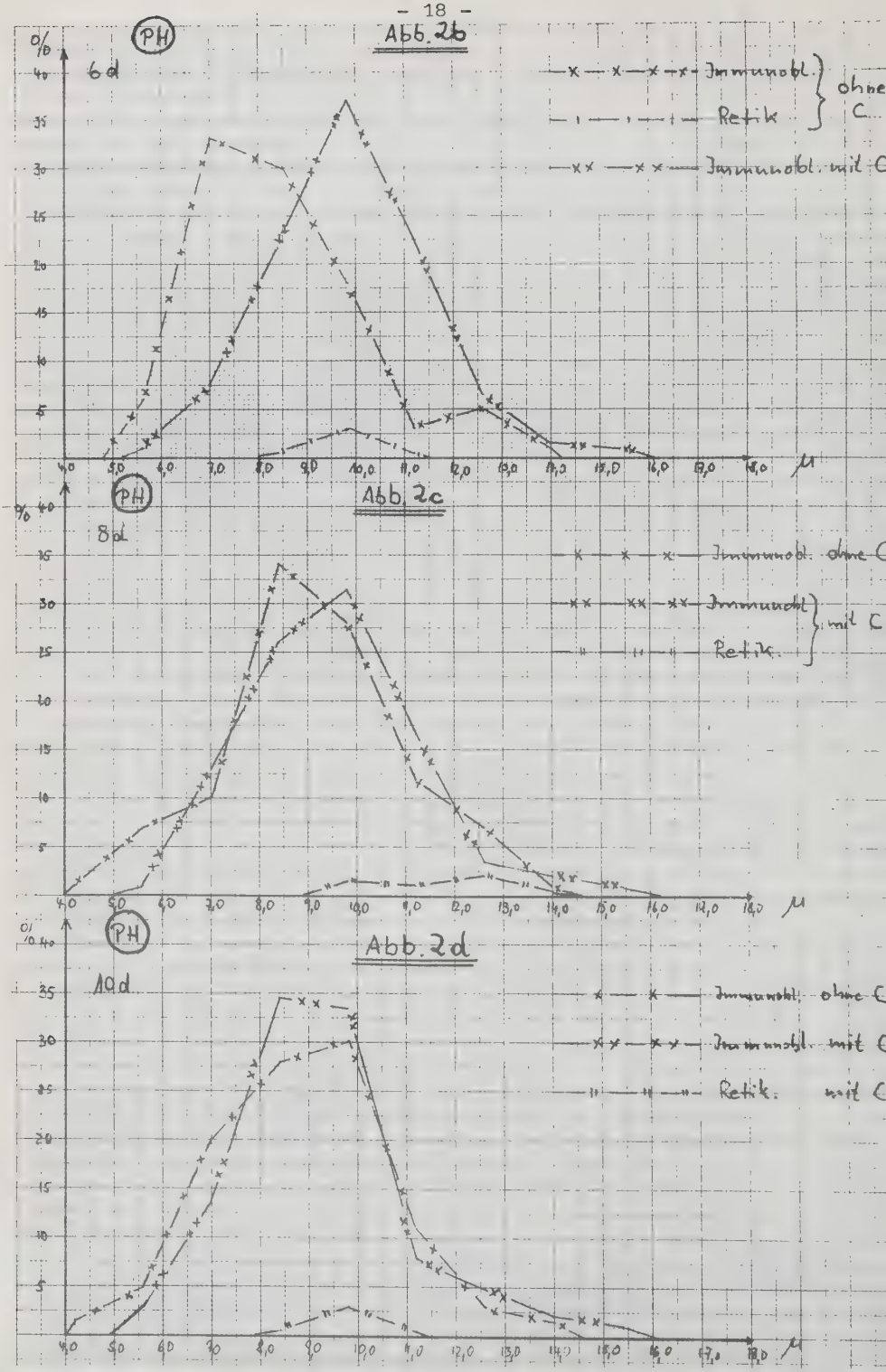


Abb. 2b
PH
6d
%
Immunobl.
Retik
ohne C
Immunobl. mit C
µ
Abb. 2c
PH
8d
%
Immunobl. ohne C
Immunobl.
Retik.
mit C
µ
Abb. 2d
PH
10d
%
Immunobl. ohne C
Immunobl. mit C
Retik. mit C
µ

Tab. 1	mit C ☒ 3d	6d	8d	10d	Mitosen insges.	ohne C ■ 3d	6d	8d	10d	Mitosen insges.
Prophase	3	6	3	2	14	1	1	–	1	3
frühe Metaph.	8	10	7	5	30	1	–	1	–	2
späte Metaph.	1	–	–	–	1	–	–	1	–	1
Anaphase	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Telophase	–	–	–	–	–	–	1	–	–	1
Rekonst. phase	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
path. Mitose	–	–	–	2	2	–	–	–	–	–
Mitosen	12	16	10	9		2	2	2	1	
Gesamtzellzahl	220	208	200	208		212	200	200	200	
Mitoseindex	54‰	76‰	50‰	43‰		9‰	10‰	10‰	5‰	

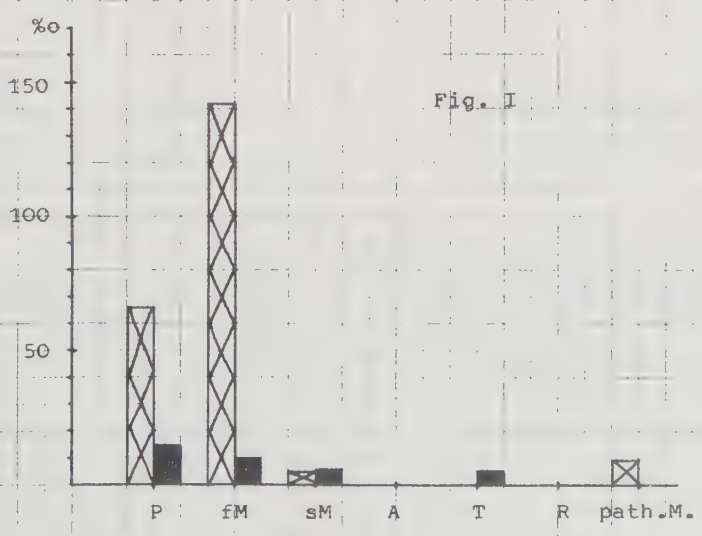


Fig. I

Versuch II: Pokeweed-Mitogen-Kultur des Venenblutes der Patientin P., 78 Jahre.

Diagnose und Laborbefunde: siehe Versuch I, Seite 13.

Erklärung zu den Abbildungen:

Abb. 3: Summenkurven aller gemessenen Zellkerne der Stichprobe.

Abb. 3a: Summenkurven aller gemessenen Zellkerne der Stichprobe mit Colcemid-Zusatz.

Abb. 4: Die verschiedenen, gemessenen Zellarten nach den gegebenen Zeitabständen:

Lymphozyten,
Lymphoidzellen,
Virozyten,
Stimulierte Lymphozyten,
Immunoblasten,
Retikulumzellen.

Abb. 4a: nach dem 3. d

Abb. 4b: nach dem 6. d

Abb. 4c: nach dem 8. d

Abb. 4d: nach dem 10. d

Abszisse: Kerngrößen-Durchmesser in μ,

Ordinate: Häufigkeit in %.

PW = Pokeweed-Mitogen
C = Colcemid-Zusatz
d = Tage.

Versuch II:

Die Summenkurven ohne C (Abb. 3) zeigen folgende Gipfel: Nach 3 d und 6 d bei 8,4 μ . In dem Präparat des 8. und 10. d liegen die Gipfel der Kurven bei 9,8 μ . Die Summenkurven mit C (Abb. 3a) zeigen alle einen Gipfelpunkt bei 9,8 μ .

Die Kurven der verschiedenen, gemessenen Zellarten zeigen folgendes: Am 3. Kulturtag (Abb. 4a) sind nur noch wenige Lymphozyten zu sehen (mit C = 4,5 %; ohne C = 3,4 %). Stimulierte Lymphozyten (mit C = 7 %; ohne C = 12,5 %) und Retikulumzellen (mit C = 6 %; ohne C = 7,1 %) sind zu erkennen. Den Hauptanteil der Zellen machen jedoch die Immunoblasten aus, deren Höhepunkte im Ausstrich ohne C (84,5 %) bei 8,4 μ , im Ausstrich mit C (82,5 %) bei 9,8 μ liegen.

Am 6. d (Abb. 4b) sehen wir im Ausstrich ohne C wieder viele kleine Immunoblasten (bei 7 μ = 25 %, bei 8,4 μ = 32 %). Die Retikulumzellen (7,1 %) haben Gipfel bei 9,8 μ und 12,6 μ . Die Kurven der Kultur mit C zeigen folgende Gipfel: Immunoblasten (94,5 %) bei 9,8 μ , Retikulumzellen (5,5 %) bei 11,2 μ .

Am 8. d (Abb. 4c) liegt der Gipfel der Immunoblasten in beiden Ausstrichen bei 9,8 μ . Im Ausstrich ohne C sind noch einige Retikulumzellen (5 %) zu sehen, deren Kurve jedoch sehr flach verläuft.

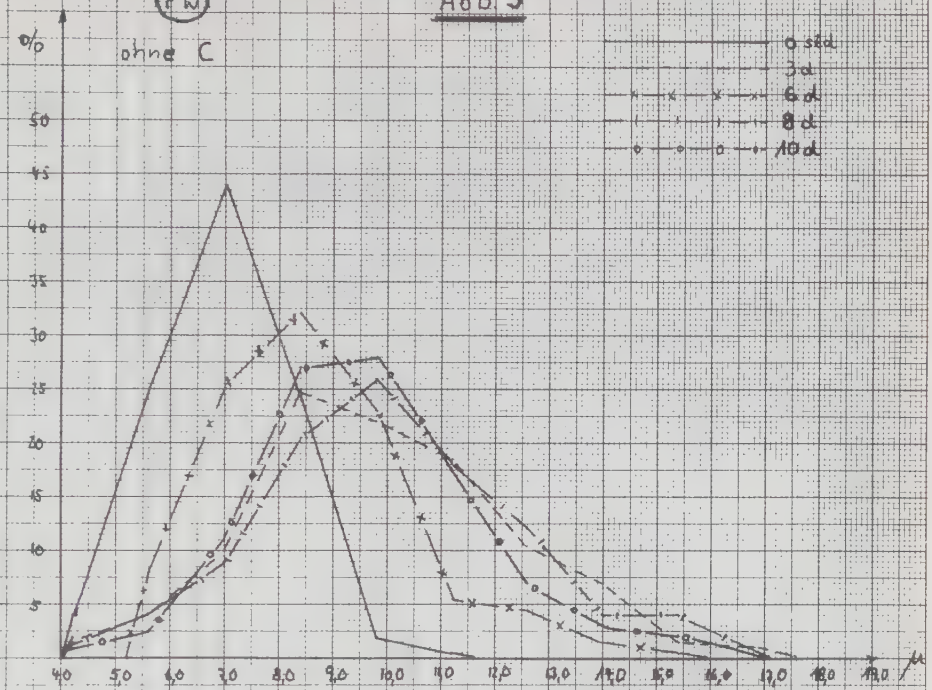
Im Präparat des 10. d (Abb. 4d) zeigen beide Immunoblasten-Kurven einen ähnlichen Verlauf. Die Höhepunkte liegen wie folgt: Ohne C bei 8,4 und 9,8 μ , mit C bei 9,8 μ .

Mitoseindices und Mitosephasen-Verteilung zeigen Tab. 2 und Fig. II. Alle Mitosen der mit Colcemid versetzten Kultur

haben im Gegensatz zur Kontrollkultur das Stadium der Metaphase nicht überschritten. Der Mitoseindex steigt bis zum 6. Kulturtag auf einen maximalen Wert von 75 %o an, fällt dann jedoch wieder ab.

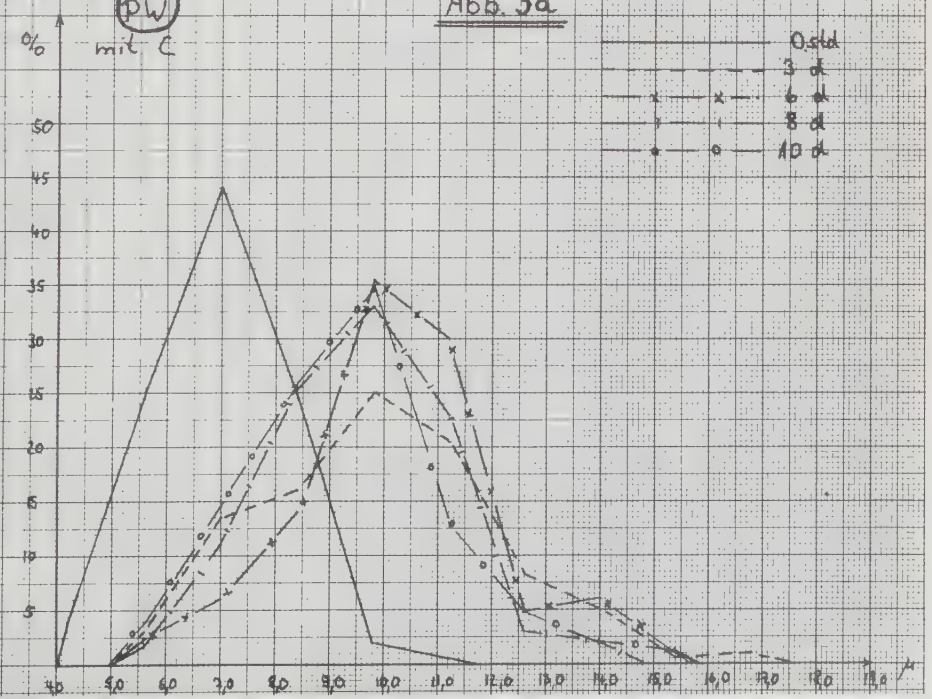
PW ohne C

Abb. 3



PW mit C

Abb. 3a



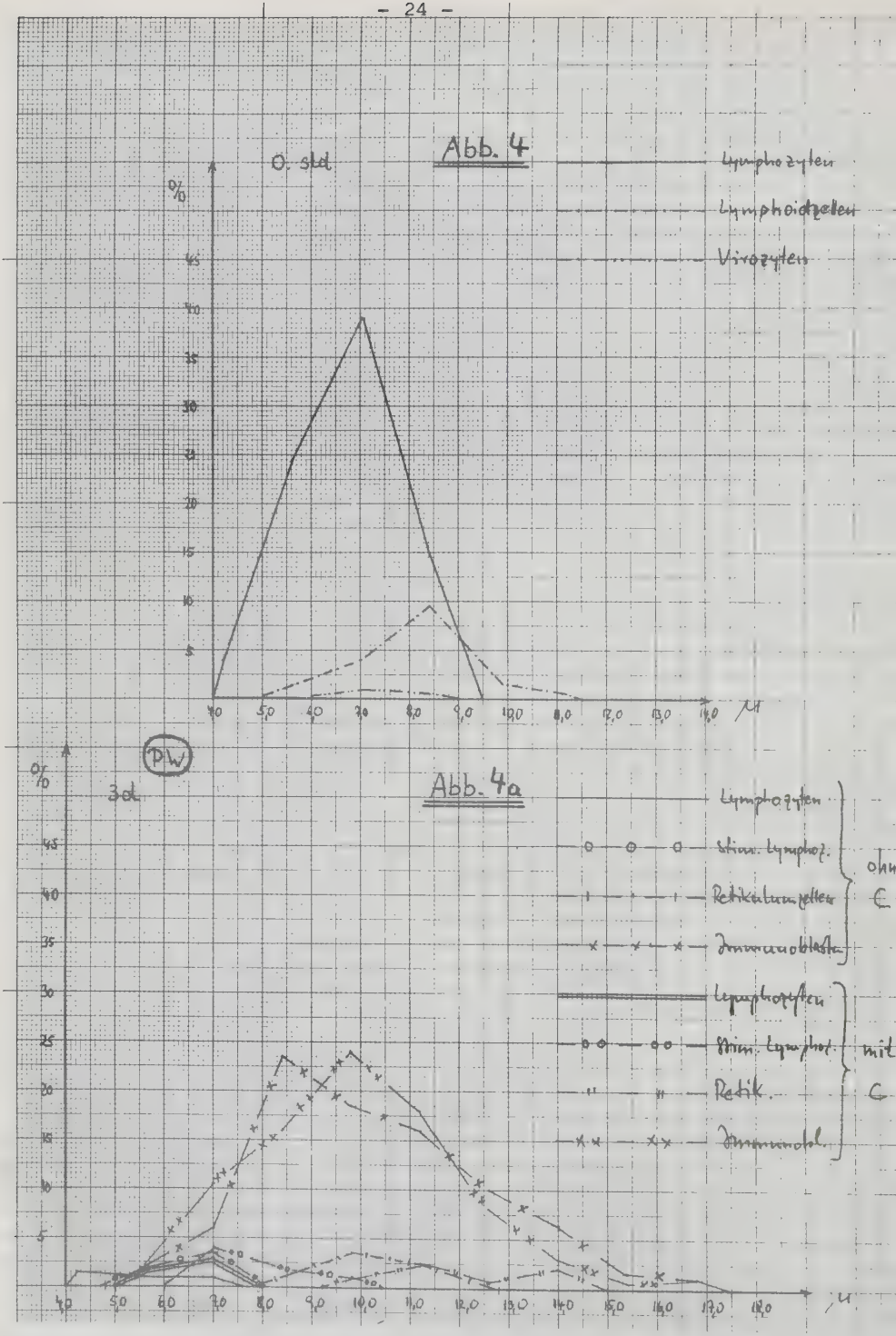
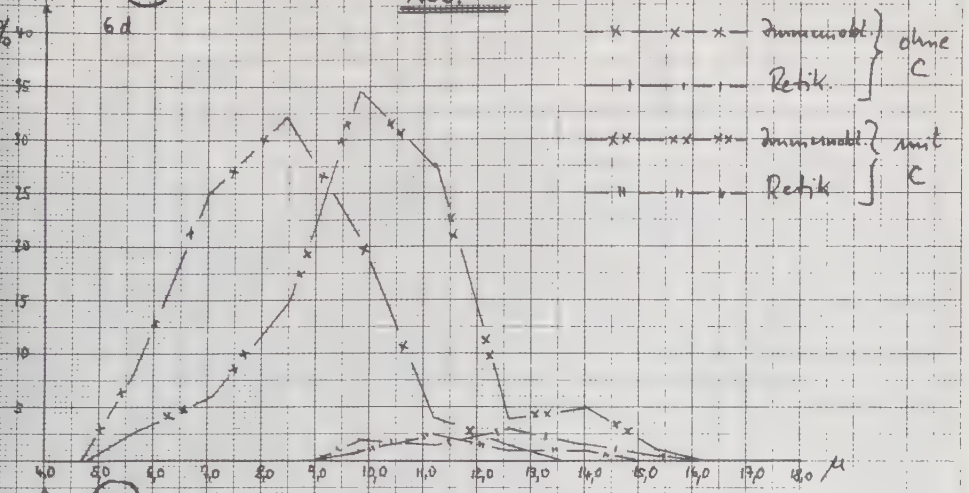


Abb. 4
0. std
%
Lymphozyten
Lymphoidzellen
Virozyten
45
40
35
30
25
20
15
10
5
4,0
5,0
6,0
7,0
8,0
9,0
10,0
11,0
12,0
13,0
14,0
PW
Abb. 4a
3d.
%
Lymphozyten
stim. Lymphoz.
Retikulumzellen
Immunoblasten
ohne
Lymphozyten
stim. Lymphoz.
Retik.
Immunobl.
mit
4,0
5,0
6,0
7,0
8,0
9,0
10,0
11,0
12,0
13,0
14,0
15,0
16,0
17,0
18,0

PW

6d

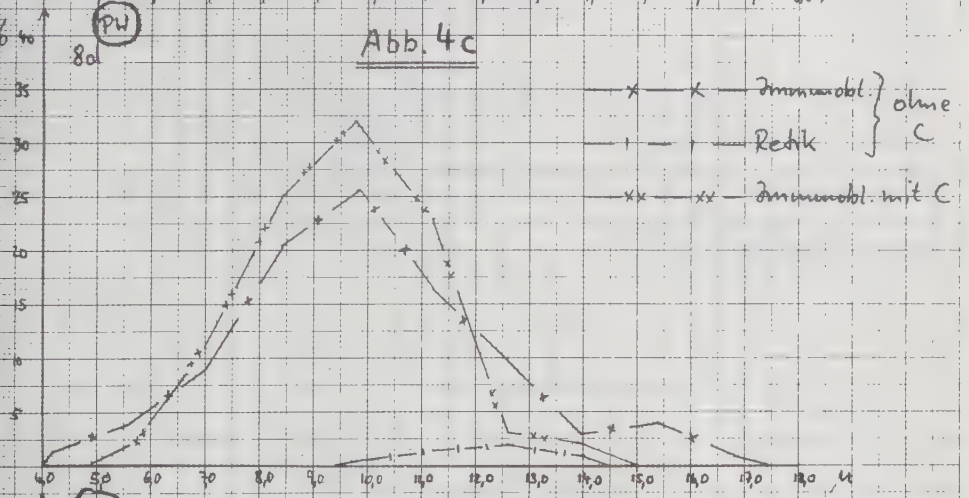
Abb. 4b



PW

8d

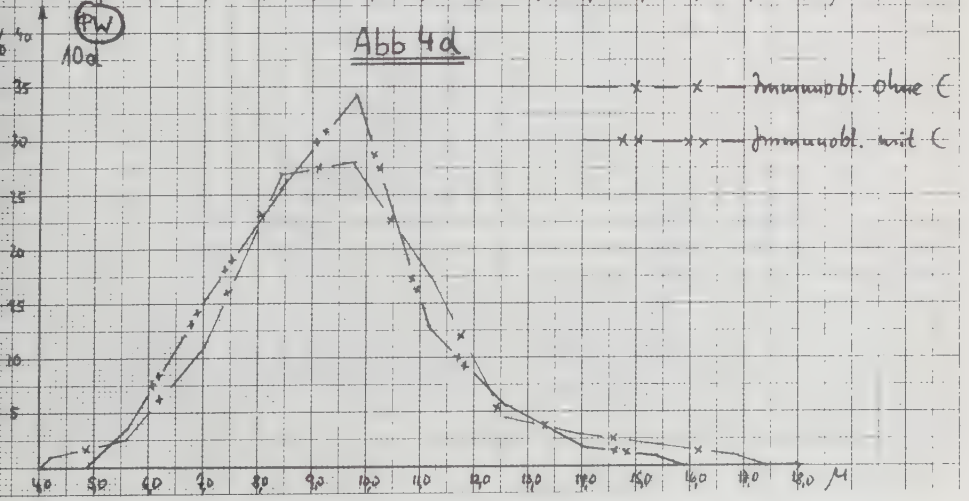
Abb. 4c



PW

10d

Abb 4d



mit C ☒ ohne C ■

Tab. 2	mit C 3d	mit C 6d	mit C 8d	mit C 10d	mit C Mitosen insges.	ohne C 3d	ohne C 6d	ohne C 8d	ohne C 10d	ohne C Mitosen insges.
Prophase	3	5	4	2	14	2	–	–	–	2
frühe Metaph.	6	10	7	5	28	–	1	1	1	3
späte Metaph.	–	–	–	–	–	1	–	–	1	2
Anaphase	–	–	–	–	–	–	1	–	–	1
Telophase	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Rekonst. phase	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
path. Mitose	–	–	–	1	1	–	–	–	–	–
Mitosen	9	15	11	8		3	2	1	2	
Gesamtzellzahl	200	200	200	226		239	200	200	200	
Mitoseindex	45‰	75‰	55‰	35‰		12‰	10‰	5‰	10‰	

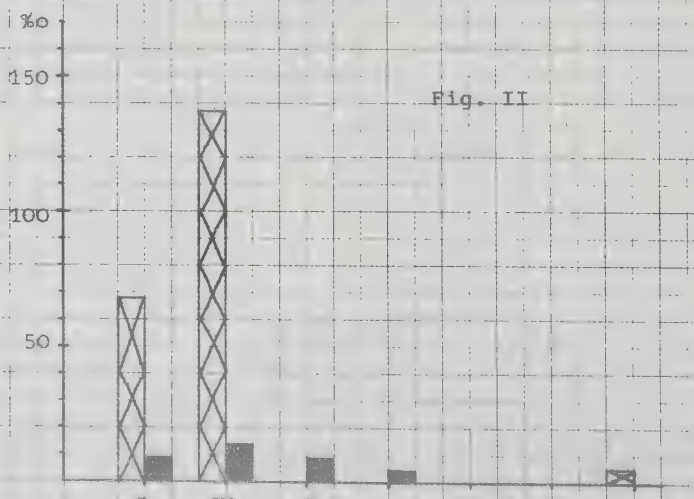


Fig. II

Versuch III: Phytohämagglutinin-Kultur des Venenblutes des Patienten S., 70 Jahre.

Diagnose: Verdacht auf Morbus Hodgekin.

Laborbefunde:

Leukozyten:	4000/µl	Erythrozyten:	4,4 Mio/µl
Segmentkernige:	70 %	Hb:	16,4 g%
Basophile:	2 %	HbE:	33,2 pg
Eosinophile:	2 %	Thrombozyten:	141000/µl.
Lymphozyten:	23 %		
Monozyten:	3 %		

Erklärung zu den Abbildungen:

Abb. 5: Summenkurven aller gemessenen Zellkerne der Stichprobe.

Abb. 5a: Summenkurven aller gemessenen Zellkerne der Stichprobe mit Colcemid-Zusatz.

Abb. 6: Die verschiedenen, gemessenen Zellarten nach den gegebenen Zeitabständen:

Lymphozyten,
Lymphoidzellen,
Virozyten,
Stimulierte Lymphozyten,
Immunoblasten,
Retikulumzellen.

Abb. 6a: nach dem 3. d

Abb. 6b: nach dem 6. d

Abb. 6c: nach dem 8. d

Abb. 6d: nach dem 10. d.

Abszisse: Kerngrößen-Durchmesser in μ ,

Ordinate: Häufigkeit in %.

PH = Phytohämagglutinin
C = Colcemid-Zusatz
d = Tage.

Versuch III:

Beim Betrachten der Summenkurven ohne C (Abb. 5) erkennt man einen ähnlichen Verlauf wie in den vorherigen Versuchen. Am 6. d findet die nach JONASSON zu erwartende Verkleinerung der Zellen statt, die dann nach weiteren 2 d wieder an Größe zugenommen haben. Die Summenkurven der mit C versetzten Kultur (Abb. 5a) zeigen folgende Gipfel: Am 3. d 11,2 μ , am 6. d 11,2 μ , am 8. d 9,8 μ und am 10. d 9,8 μ . Eine Verkleinerung der Zellkerndurchmesser war also in der mit Colcemid versetzten Kultur nicht zu beobachten.

Die Kurven der verschiedenen, gemessenen Zellarten lassen folgendes erkennen: Am 3. d (Abb 6a) sind nur noch wenige Lymphozyten (ohne C = 4,5 %) und auch nur eine geringe Anzahl von stimulierten Lymphozyten (ohne C = 13,7 %) mit einem Gipfel bei 7 μ zu sehen. Den Hauptanteil in beiden Präparaten nehmen die Immunoblasten (ohne C = 81,8 %; mit C = 86,9 %) ein. Ihre Gipfel liegen bei 9,8 - 11,2 μ (ohne C) und 11,2 μ (mit C).

Im Präparat des 6. d ohne C (Abb. 6b) sehen wir wieder kleinere Immunoblasten (8,4 μ), sowie wenige Retikulumzellen. Die Kurve der Immunoblasten mit C zeigt dagegen einen Gipfel bei 11,2 μ .

In den Präparaten des 8. d und 10. d (Abb. 6c und 6d) finden sich wieder größere Immunoblasten mit Gipfeln bei 9,8 μ .

Mitoseindices und Mitosephasen-Verteilung zeigen Tab. 3 und Fig. III. Alle Mitosen der mit Colcemid versetzten Kultur haben im Gegensatz zur Kontrollkultur das Stadium der Metaphase nicht überschritten. Der Mitoseindex steigt bis zum 8. Kulturtag auf einen maximalen Wert von 67 ‰ an, fällt dann jedoch wieder ab.

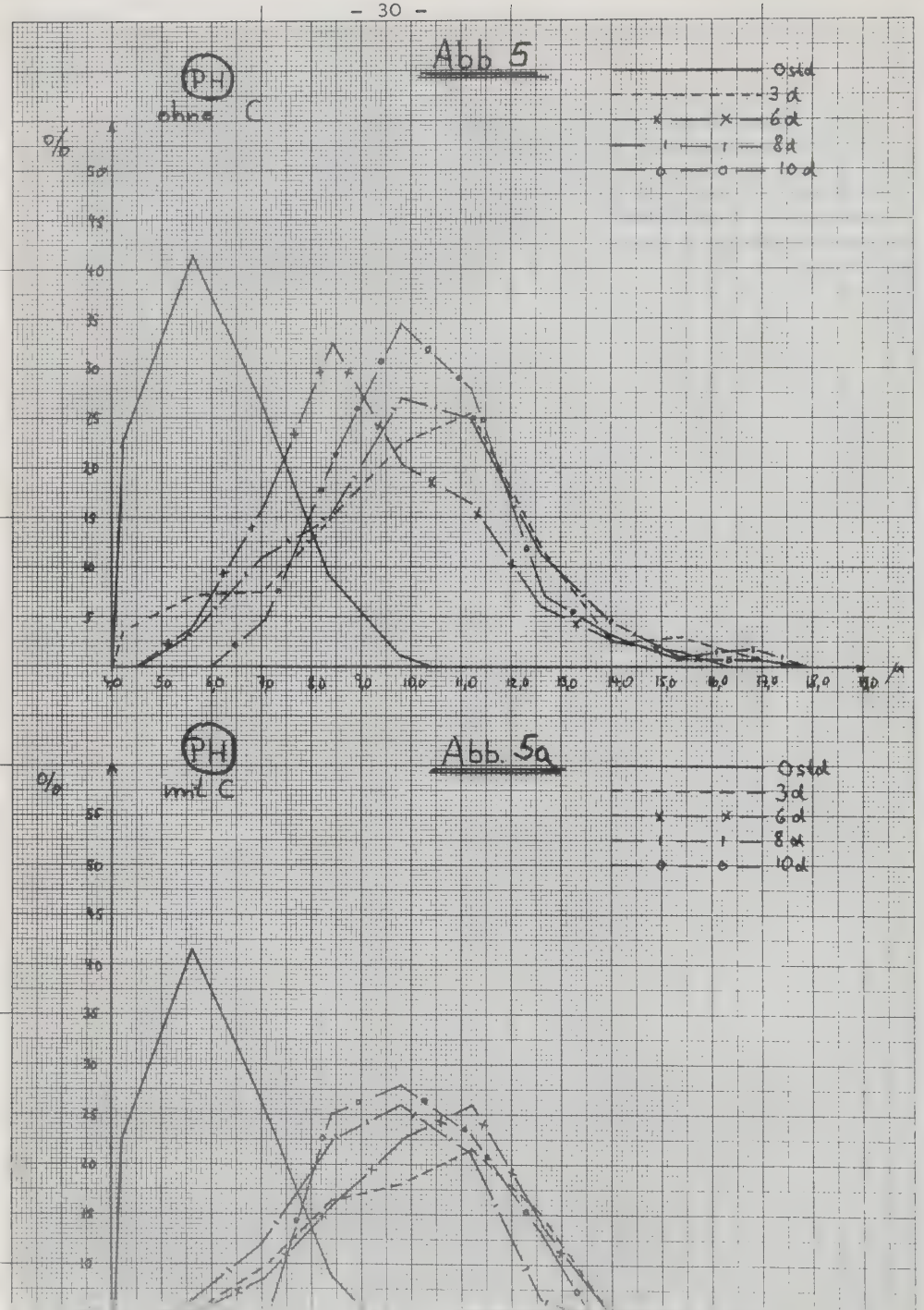


Abb 5
PH
ohne C
%
0 std
3 d
6 d
8 d
10 d
Abb 5a
PH
mit C
%
0 std
3 d
6 d
8 d
10 d

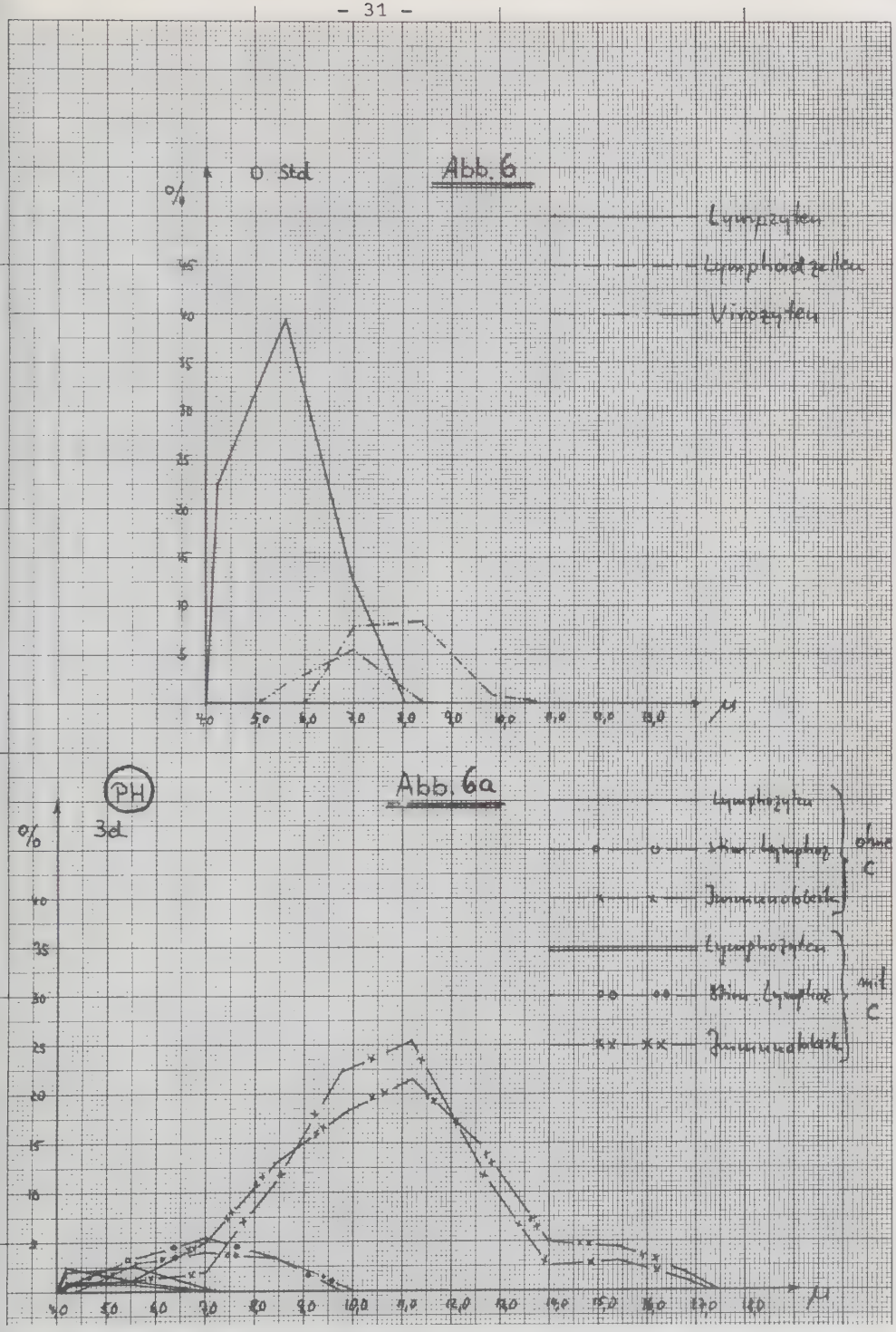


Abb. 6
0 Std
%
Lymphozyten
Lymphoidzellen
Virozyten
µ
Abb. 6a
PH
3d
%
Lymphozyten
ohne C
Immunoblasten
Lymphozyten
mit C
Immunoblasten
µ

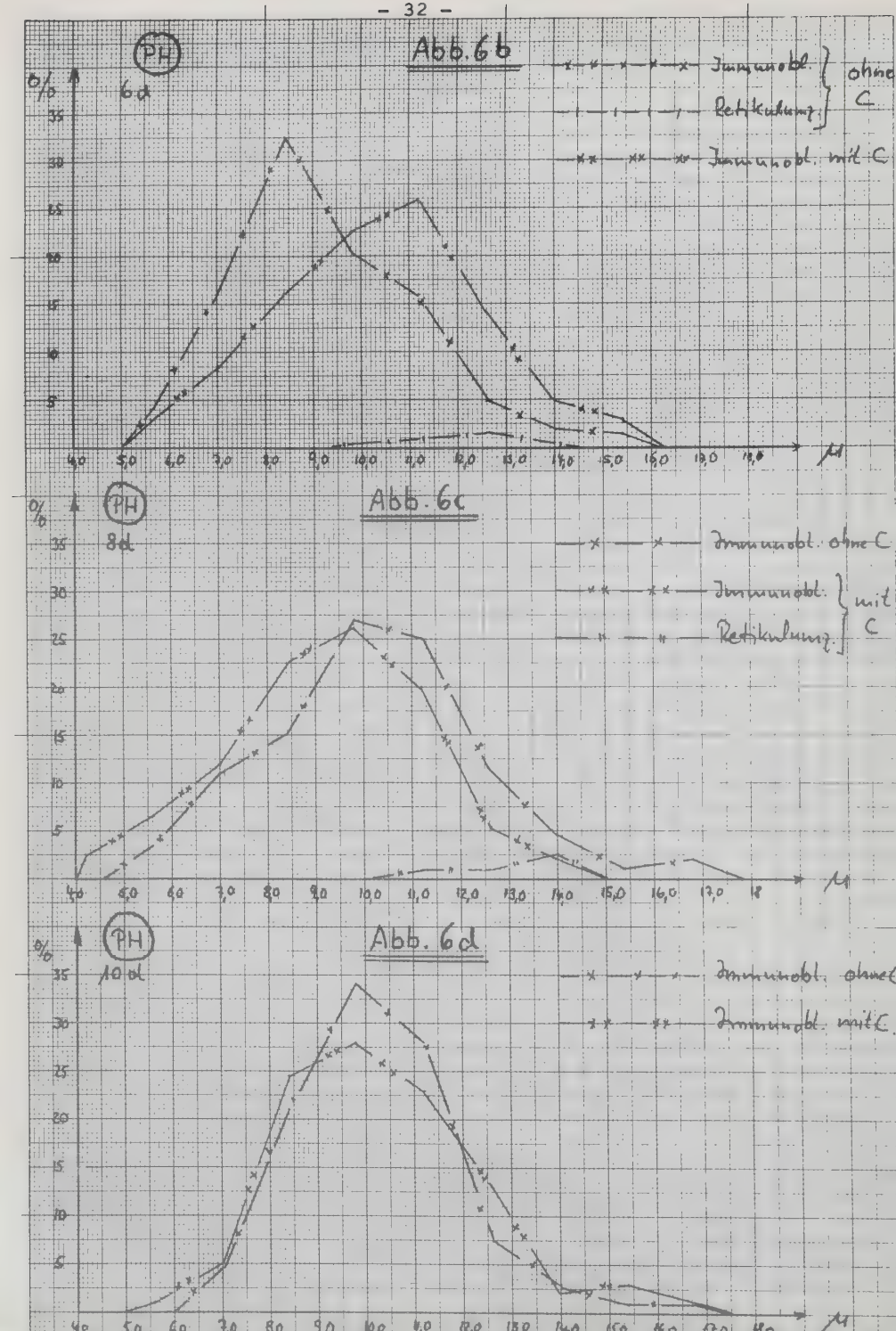


Abb. 6b
PH
6d
%
Immunobl.
Retikulum
ohne C
Immunobl. mit C
Abb. 6c
PH
8d
%
Immunobl. ohne C
Immunobl.
Retikulum
mit C
Abb. 6d
PH
10 d
%
Immunobl. ohne C
Immunobl. mit C

mit C ⊠ ohne C ■

Tab. 3	3d	6d	8d	10d	Mitosen insges.	3d	6d	8d	10d	Mitosen insges.
Pro-phase	2	2	4	2	10	-	-	1	-	1
Frühe Metaph.	3	8	11	6	28	-	-	1	1	2
späte Metaph.	-	-	-	-	-	1	1	-	-	2
Ana-phase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Telo-phase	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1
Rekonst. phase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
path. Mitose	-	1	-	-	1	-	-	-	-	-
Mitosen	5	11	15	8		1	2	2	1	
Gesamt-zellzahl	238	210	222	218		221	222	202	201	
Mitose-index	21‰	52‰	67‰	36‰		4‰	9‰	9‰	4‰	

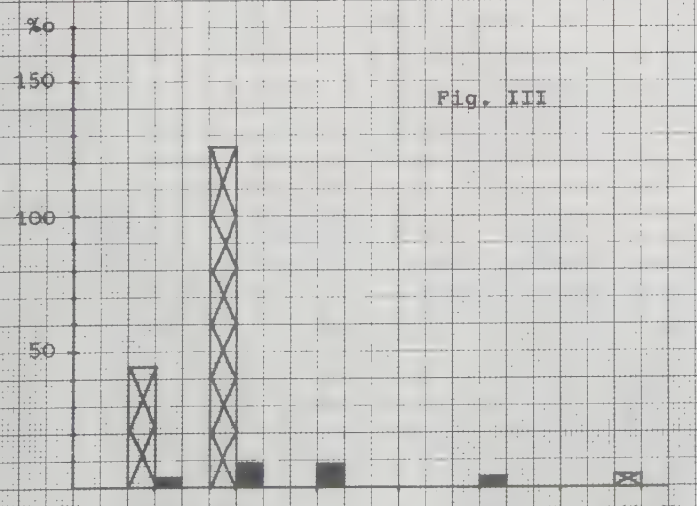


Fig. III

Versuch IV: Pokeweed-Mitogen-Kultur des Venenblutes des Patienten S., 70 Jahre.

Diagnose und Laborbefunde: siehe Versuch III, Seite 27.

Erklärung zu den Abbildungen:

Abb. 7 : Summenkurven aller gemessenen Zellkerne der Stichprobe.

Abb. 7a: Summenkurven aller gemessenen Zellkerne der Stichprobe mit Colcemid-Zusatz.

Abb. 8 : Die verschiedenen, gemessenen Zellarten nach den gegebenen Zeitabständen:

Lymphozyten,
Lymphoidzellen,
Virozyten,
Stimulierte Lymphozyten,
Immunoblasten,
Retikulumzellen.

Abb. 8a: nach dem 3. d

Abb. 8b: nach dem 6. d

Abb. 8c: nach dem 8. d

Abb. 8d: nach dem 10. d

Abszisse: Kerngrößendurchmesser in μ ,

Ordinate: Häufigkeit in %.

PW = Pokeweed-Mitogen
C = Colcemid-Zusatz
d = Tage.

Versuch IV:

Die Summenkurven (Abb. 7) zeigen in diesem Versuch einen ähnlichen Verlauf wie in den Versuchen I, II und III. Im O-Std.-Präparat sind vorwiegend kleinere Zellen mit einem Gipfel bei 5,6 μ zu erkennen. Die Gipfel am 3. d, 8. und 10. d zeigen ihren Höhepunkt bei 9,8 μ. Im Präparat des 6. d sind jedoch wieder viele kleine Zellen mit einem Kerndurchmesser von 7 - 8,4 μ zu erkennen. Die Summenkurven mit C (Abb. 7a) weichen, wie in den vorherigen Versuchen, zwischen dem 3. und 10. d nur geringfügig voneinander ab, d.h. es kommen nach längerer Kultur im Gegensatz zum Versuch ohne Colcemid-Zusatz kaum kleinere Zellen zur Beobachtung.

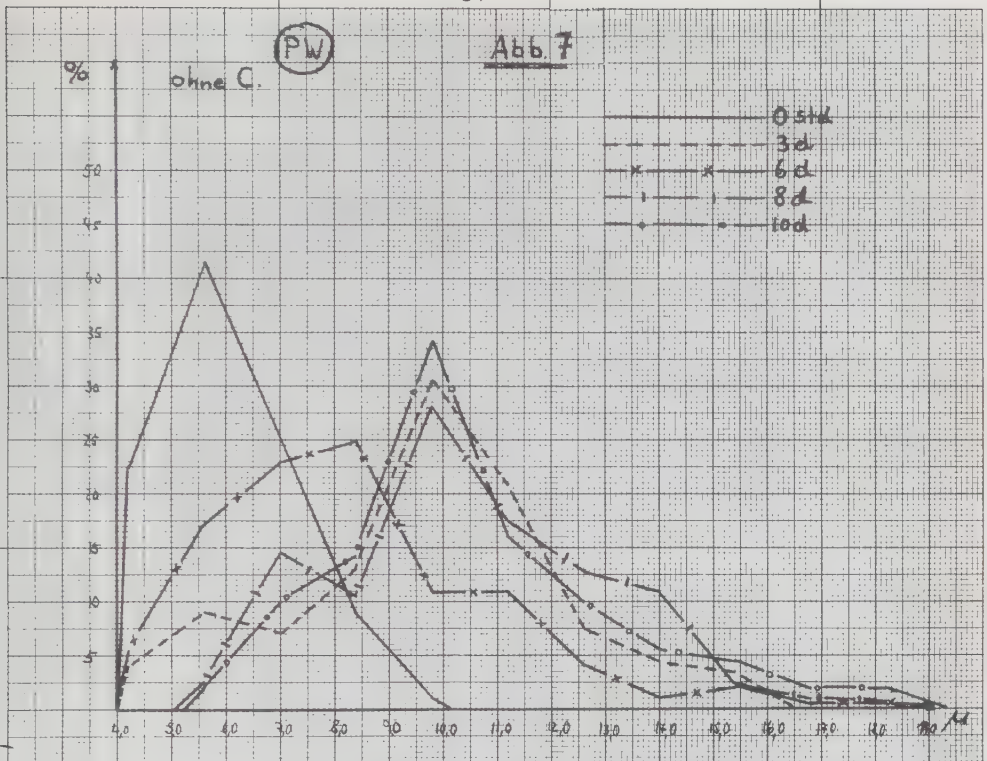
Die Kurven der verschiedenen, gemessenen Zellarten zeigen folgendes: Im O-Std.-Präparat (Abb. 8) stellen die Lymphozyten mit einem Gipfel bei 5,6 μ die Hauptmenge der gemessenen Zellen dar (74,6 %). Virozyten (7,5 %) haben ihren Gipfel bei 7 μ, Lymphoidzellen (17,9 %) bei 7 - 8,4 μ.

Am 3. Kulturtag (Abb. 8a) sehen wir eine starke Abnahme der Lymphozyten, dafür aber eine Vermehrung der stimulierten Lymphozyten und eine starke Zunahme der Immunoblasten mit einem Gipfel bei 9,8 μ sowohl in der Kontrollkultur, als auch in der mit Colcemid versetzten Kultur.

Am 6. d (Abb. 8b) sind in beiden Ausstrichen nur noch Immunoblasten zu erkennen. Während im Kontrollausstrich vorwiegend kleinere mit einem Gipfel bei 7 - 8,4 μ zu sehen sind, zeigen die Immunoblasten der mit Colcemid versetzten Kultur ihren Gipfel bei 9,8 μ.

In den Präparaten des 8. und 10. d (Abb. 8c + 8d) liegen die Gipfel der Kontrollkultur und der Colcemid-Kultur bei 9,8 μ.

Mitoseindices und Mitosephasen-Verteilung zeigen Tab. 4 und Fig. IV. Alle Mitosen der mit Colcemid versetzten Kultur haben im Gegensatz zur Kontrollkultur auch in diesem Versuch das Stadium der Metaphase nicht überschritten. Der Mitoseindex steigt bis zum 8. Kulturtag auf einen maximalen Wert von 98 %o an, fällt dann jedoch wieder ab.


PW
Abb. 7
%
ohne C.
0 std.
3 d.
6 d.
8 d.
10 d.

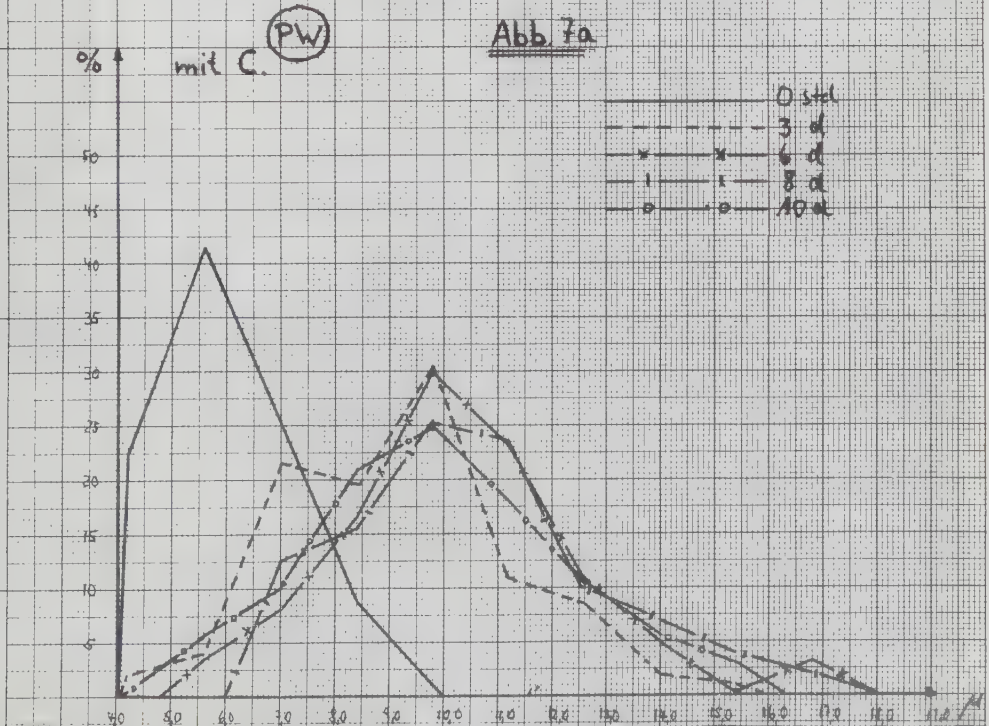

PW
Abb. 7a
%
mit C.
0 std.
3 d.
6 d.
8 d.
10 d.

Abb. 8

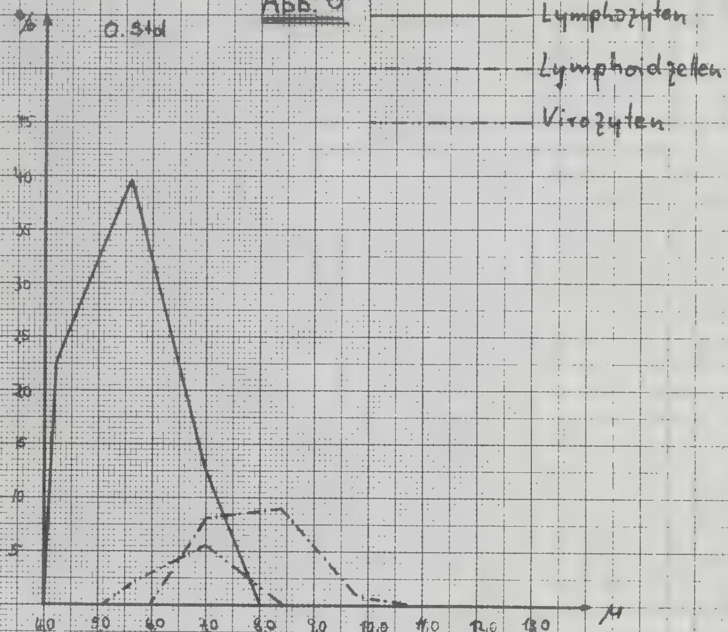
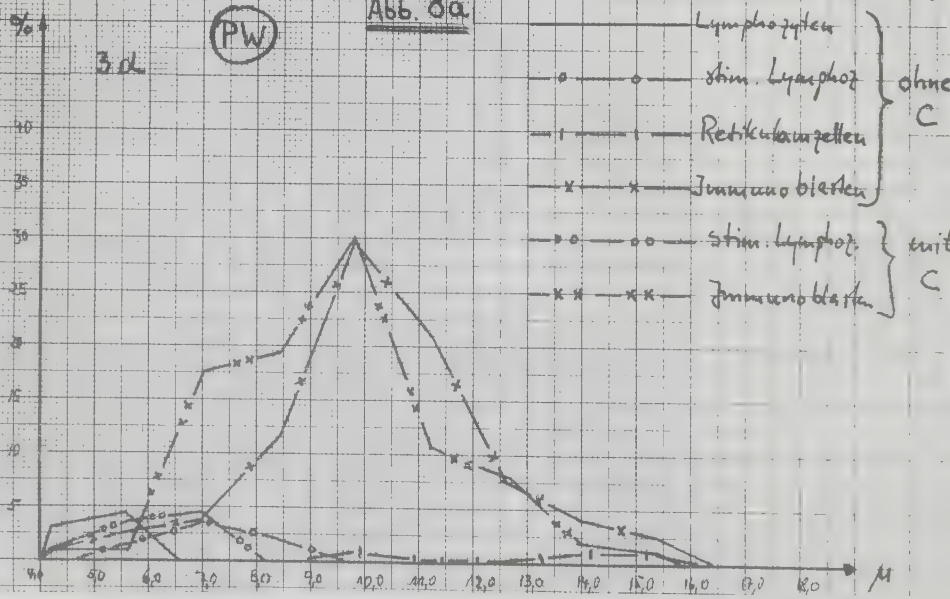
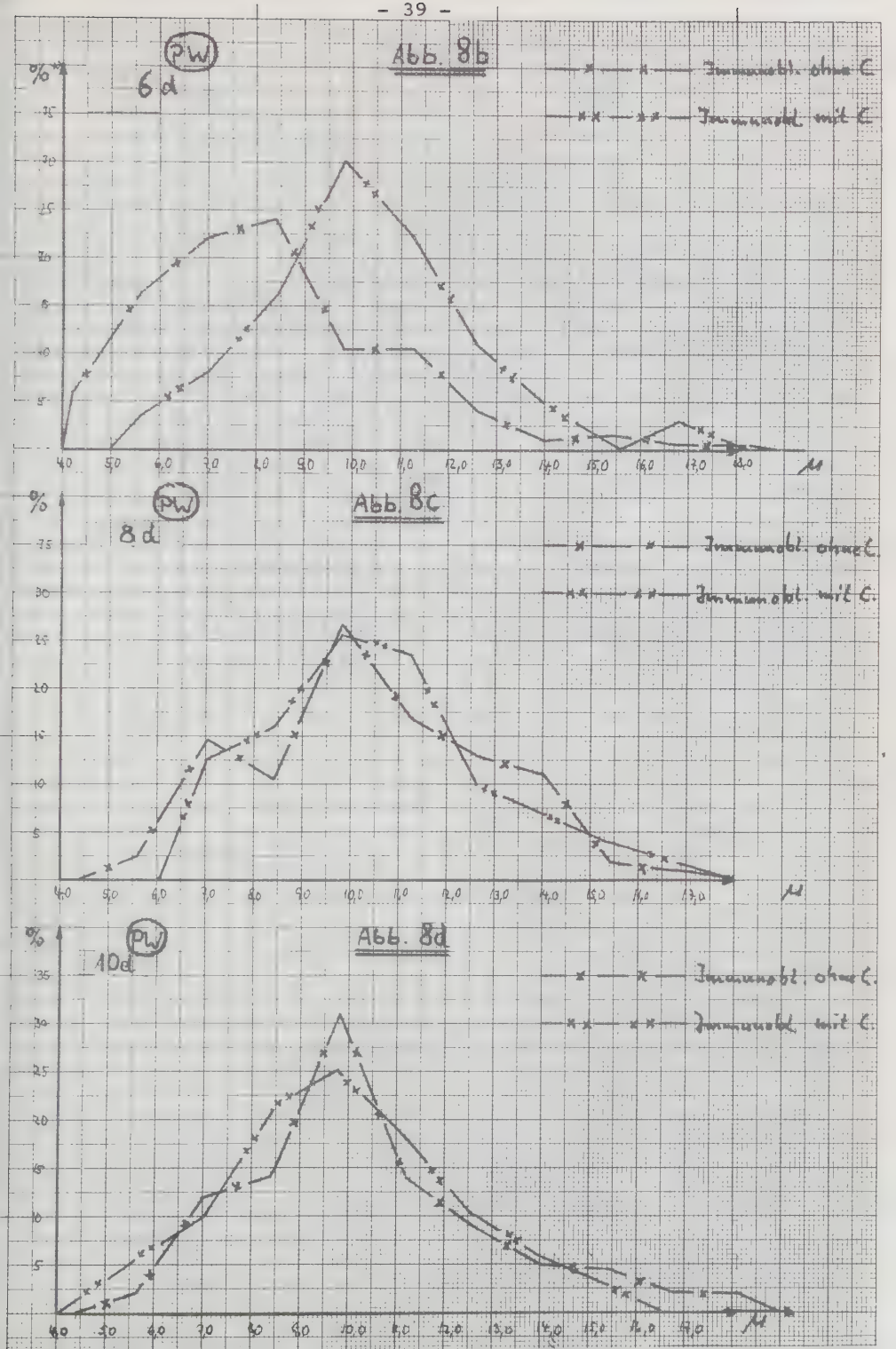

%
0. Std
Lymphozyten
Lymphoidzellen
Virozyten
4,0
5,0
6,0
7,0
8,0
9,0
10,0
11,0
12,0
13,0
μ

Abb. 8a


%
PW
3 d
Lymphozyten
stim. Lymphoz.
Retikulumzellen
Immunoblasten
ohne C
stim. Lymphoz.
Immunoblasten
mit C
4,0
5,0
6,0
7,0
8,0
9,0
10,0
11,0
12,0
13,0
14,0
15,0
16,0
17,0
18,0
μ


PW
6d
Abb. 8b
Immunobl. ohne C
Immunobl. mit C
%
μl
PW
8d
Abb. 8c
Immunobl. ohne C.
Immunobl. mit C.
%
μl
PW
10d
Abb. 8d
Immunobl. ohne C.
Immunobl. mit C.
%
μl

mit C ⊠ ohne C ■

Tab. 4	3d	6d	8d	10d	Mitosen insges.	3d	6d	8d	10d	Mitosen insges.
Pro-phase	1	3	6	1	11	1	1	-	-	2
frühe Metaph.	3	8	13	5	29	1	1	1	-	3
späte Metaph.	-	-	1	-	1	-	-	-	1	1
Ana-phase	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1
Telo-phase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rekonst. phase	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1
path. Mitose	-	1	-	1	2	-	-	-	-	-
Mitosen	4	12	20	7		2	3	2	1	
Gesamt-zellz.	204	201	204	218		236	223	223	215	
Mitose-index	19‰	59‰	98‰	32‰		8‰	13‰	8 ‰	4‰	

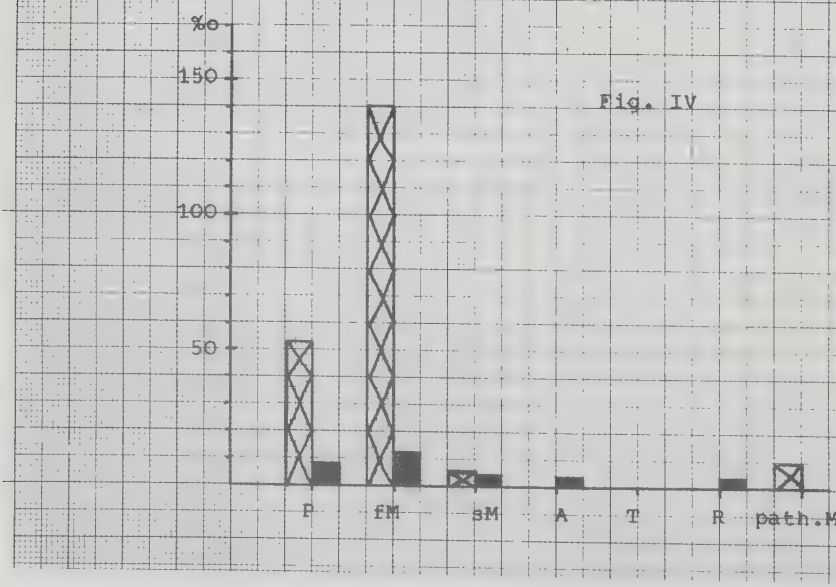


Fig. IV

Versuch V: Phytohämagglutinin-Kultur des Venenblutes der Patientin P., 14 Jahre.

Diagnose: Zustand nach Mononucleosis infektiosa.

Laborbefunde:

Leukozyten:	7000/µl	Erythrozyten:	4,01 Mio/µl
Stabkernige:	8 %	Hb:	11,6 g%
Segmentkernige:	38 %	HbE:	28,8 pg
Lymphozyten:	41 %		
Monozyten:	12 %		
Basophile:	1 %		

Erklärung zu den Abbildungen:

Abb. 9 : Summenkurven aller gemessenen Zellkerne der Stichprobe.

Abb. 9a: Summenkurven aller gemessenen Zellkerne der Stichprobe mit Colcemid-Zusatz.

Abb. 10: Die verschiedenen, gemessenen Zellarten nach den gegebenen Zeitabständen:

Lymphozyten,
Lymphoidzellen,
Virozyten,
Stimulierte Lymphozyten,
Immunoblasten,
Retikulumzellen.

Abb. 10a: nach dem 3. d

Abb. 10b: nach dem 5. d

Abb. 10c: nach dem 7. d

Abb. 10d: nach dem 10. d

Abszisse: Kerngrößendurchmesser in μ,
Ordinate: Häufigkeit in %.

PH = Phytohämagglutinin
C = Colcemid-Zusatz
d = Tage.

Versuch V:

Wenngleich im Ausgangspräparat viele Lymphoidzellen (Abb. 10) mit größerem Kerndurchmesser bei dem Blut der Mononucleose vorkommen, ist bei Betrachtung der Summenkurven ohne C (Abb. 9) ein ähnlicher Verlauf der Kurven wie in den vorangegangenen Versuchen zu erkennen. Am 5. d kommt es schon zur erwarteten Verkleinerung der Zellen (7μ), die bis zum 7. d wieder an Größe zunehmen (9,8μ). Am 10. d finden sich wiederum kleinere Zellen (8,4μ) in der Kultur. In den Summenkurven der Kultur mit C (Abb. 9a) fehlen beide Zellkernverkleinerungen.

Die Kurven der verschiedenen, gemessenen Zellarten zeigen folgendes: Im Präparat des 3. d (Abb. 10a) ist der Lymphozytenanteil gegenüber dem O-Std.-Präparat wie üblich gesunken. Stimulierte Lymphozyten (7μ), Immunoblasten (9,8μ) und Retikulumzellen sind in beiden Ausstrichen zu sehen.

Am 5. d(Abb. 10b) sind im Kulturpräparat ohne C fast nur wieder kleine Immunoblasten (7μ) zu erkennen, außerdem wenige Retikulumzellen. Dagegen hat sich im Ausstrichpräparat mit C der Zellkerndurchmesser der Immunoblasten nicht verändert.

Im Präparat ohne C des 7. d (Abb. 10c) haben die Immunoblasten wieder an Größe zugenommen (9,8μ). Der Ausstrich mit C war nicht auswertbar.

Am 10. d (Abb 10d) zeigt das Präparat ohne C wieder kleinere Immunoblasten (8,4 μ), während im Ausstrich mit C vorwiegend größere Immunoblasten (11,2 μ) und wenige Retikulumzellen (7,8 %) zu erkennen sind.

Mitoseindices und Mitosephasen-Verteilung sind in Tab. 5 zusammengefaßt und in Fig. V graphisch dargestellt. Alle Mitosen der mit Colcemid versetzten Kultur haben das Stadium der Metaphase im Gegensatz zur Kontrollkultur nicht überschritten. Der Mitoseindex steigt bis zum 5. Kulturtag auf einen maximalen Wert von 104 %o an, fällt dann aber wieder ab.

Abb 9

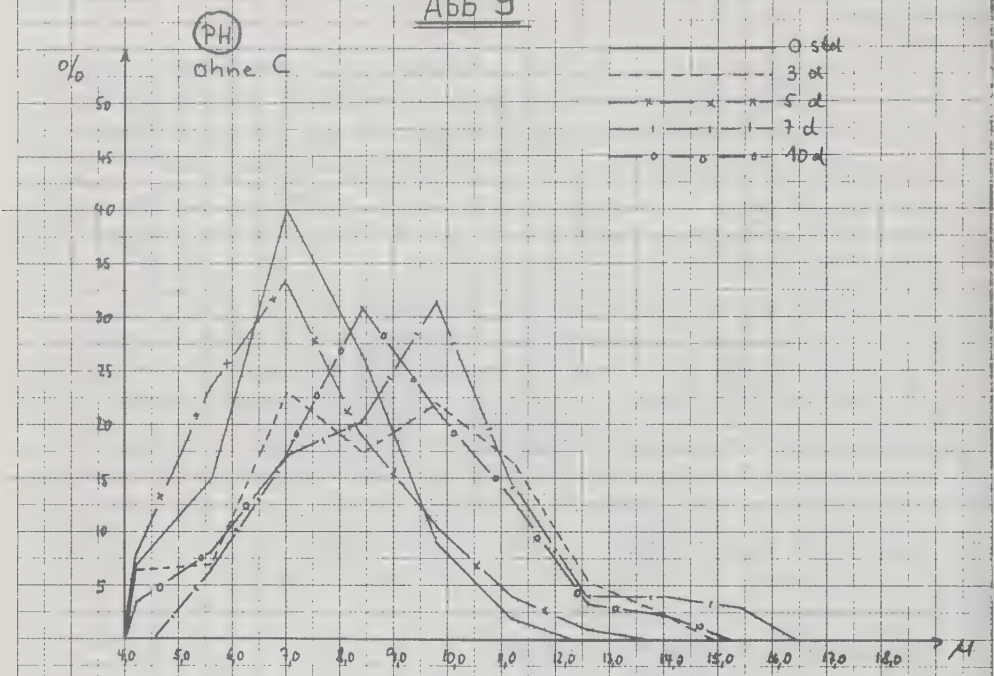
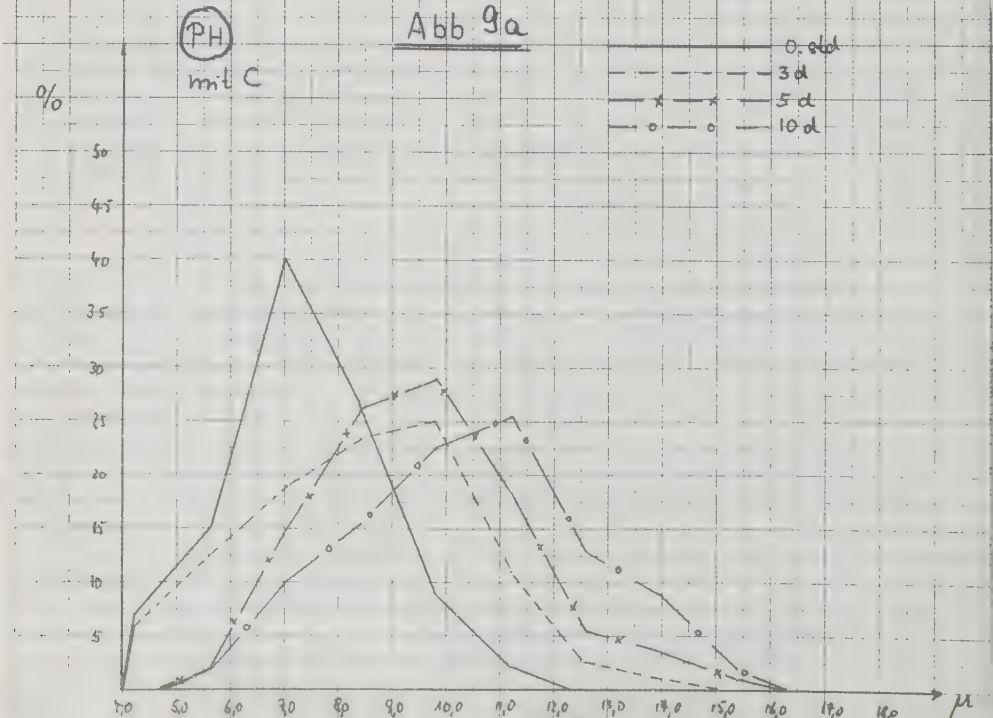
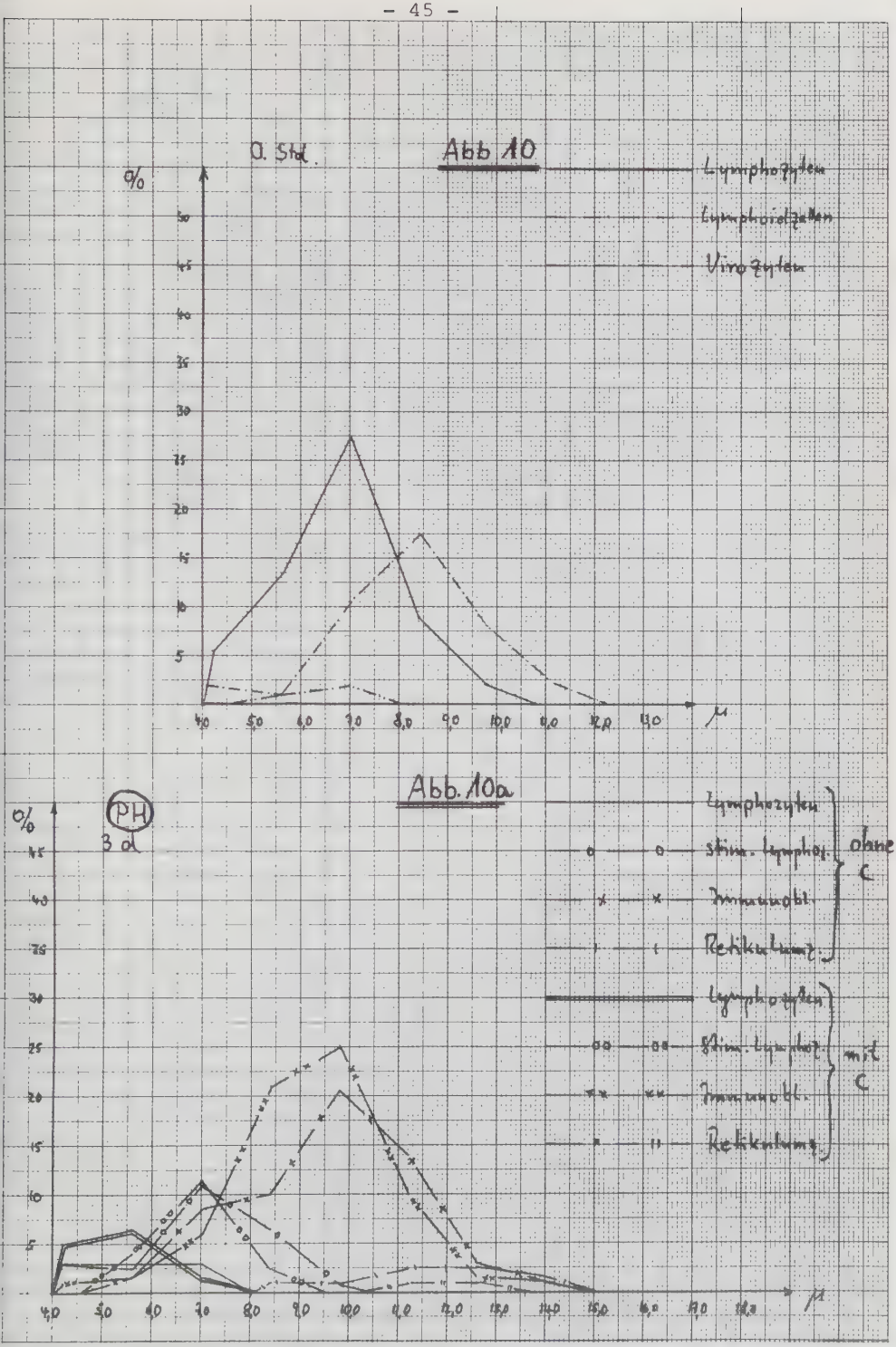
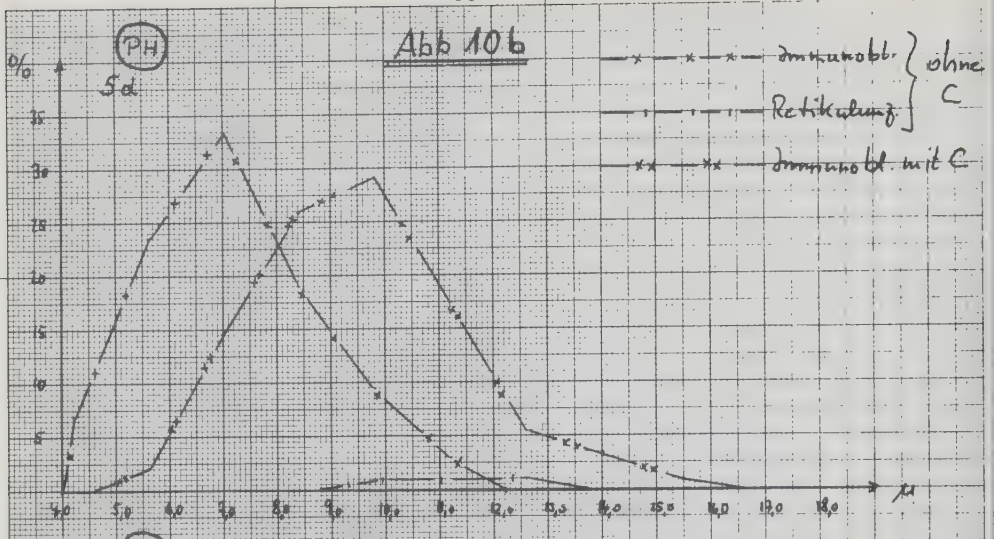
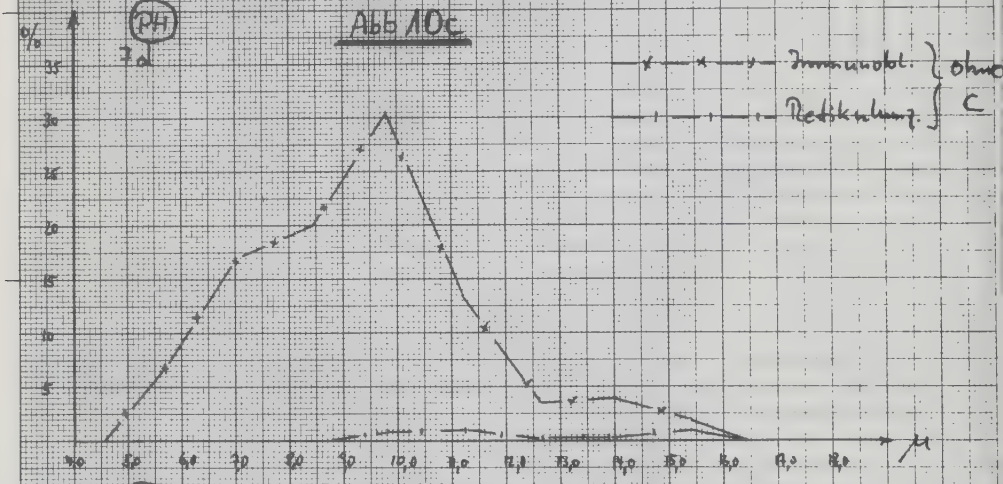


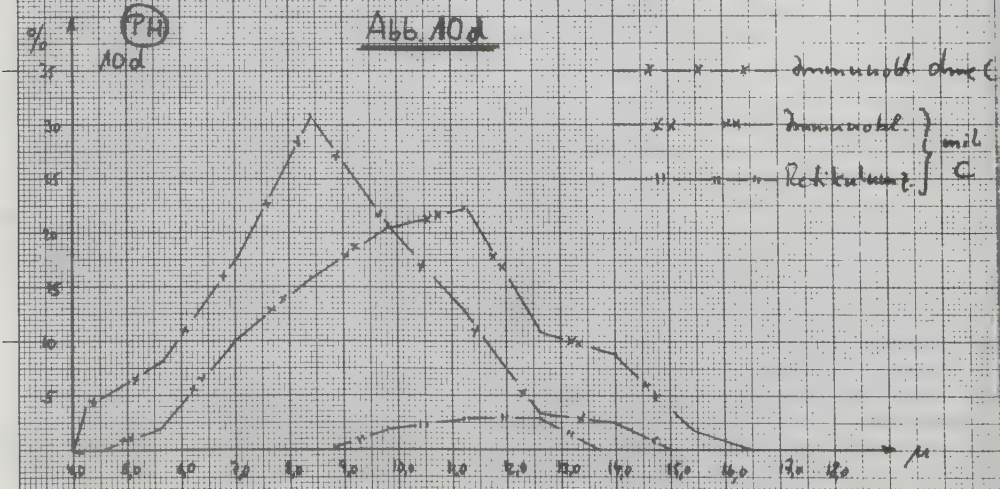
Abb 9a




O. Stk.
Abb 10
%
Lymphozyten
Lymphoidzellen
Virozyten
μ
Abb. 10a
PH
3 d
%
Lymphozyten
stim. Lymphoz.
Immunobl.
Retikulumz.
ohne C
Lymphozyten
stim. Lymphoz.
Immunobl.
Retikulumz.
mit C
μ


PH
5d
Abb 10b
%
Immunobl.
Retikulum
} ohne C
Immunobl. mit C
μ


PH
7d
Abb 10c
%
Immunobl.
Retikulum
} ohne C
μ


PH
10d
Abb 10d
%
Immunobl. ohne C
Immunobl.
Retikulum
} mit C
μ

mit C ☒ ohne C ■

Tab. 5	3d	5d	7d	10d	Mitosen insges.	3d	5d	7d	10d	Mitosen insges.
Pro-phase	5	6	-	2	13	1	1	-	-	2
Frühe Metaph.	12	15	-	7	34	2	-	1	-	3
Späte Metaph.	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
Ana-phase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Telo-phase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rekon. phase	-	-	-	-	-	-	1	-	1	2
Path. Mitose	-	2	-	1	3	-	-	-	-	-
Mitosen	17	23	-	10		3	2	1	2	
Gesamt-zellzahl	240	220	-	204		254	208	210	244	
Mitose-index	70‰	104 ‰	-	49‰		110 ‰	9‰	4 ‰	8 ‰	

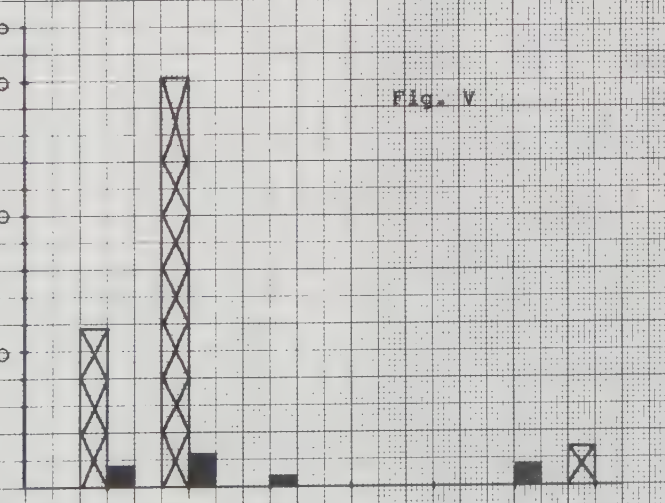


Fig. V

Versuch VI: Pokeweed-Mitogen-Kultur des Venenblutes der Patientin P., 14 Jahre.

Diagnose und Laborbefunde: siehe Versuch V, Seite 41.

Erklärung zu den Abbildungen:

Abb. 11 : Summenkurven aller gemessenen Zellkerne der Stichprobe.

Abb. 11a: Summenkurven aller gemessenen Zellkerne der Stichprobe mit Colcemid-Zusatz.

Abb. 12: Die verschiedenen, gemessenen Zellarten nach den gegebenen Zeitabständen:

Lymphozyten,
Lymphoidzellen,
Virozyten,
Stimulierte Lymphozyten,
Immunoblasten,
Retikulumzellen.

Abb. 12a: nach dem 3. d

Abb. 12b: nach dem 5. d

Abb. 12c: nach dem 7. d

Abszisse: Kerngrößendurchmesser in μ ,

Ordinate: Häufigkeit in %.

PW = Pokeweed-Mitogen
C = Colcemid-Zusatz
d = Tage.

Versuch VI:

Die Summenkurven ähneln in ihrem Verlauf denen der vorherigen Versuche. Im Präparat ohne C (Abb. 11) entstehen nach 5 d kleine Zellen (Lymphozyten bzw. Immunozyten) aus den Immunoblasten, während im Ausstrich-Präparat mit C-Zusatz (Abb. 11a) eine Zellkernverkleinerung nicht zu beobachten ist.

In den Tageseinzeldarstellungen sind die Ergebnisse der Versuche mit und ohne Colcemid-Zusatz am 3. und 7. d (Abb. 12a und Abb. 12c) nahezu identisch. Am 5. d (Abb. 12b) findet im Ausstrich ohne C wieder die übliche Zellkernverkleinerung im Gegensatz zum Ausstrich-Präparat mit C statt.

Mitoseindices und Mitosephasen-Verteilung zeigen Tab. 6 und Fig. VI. Alle Mitosen der mit Colcemid versetzten Kultur haben im Gegensatz zur Kontrollkultur auch hier das Stadium der Metaphase nicht überschritten. Der Mitoseindex steigt bis zum 7. Kulturtag auf 95 %o an.

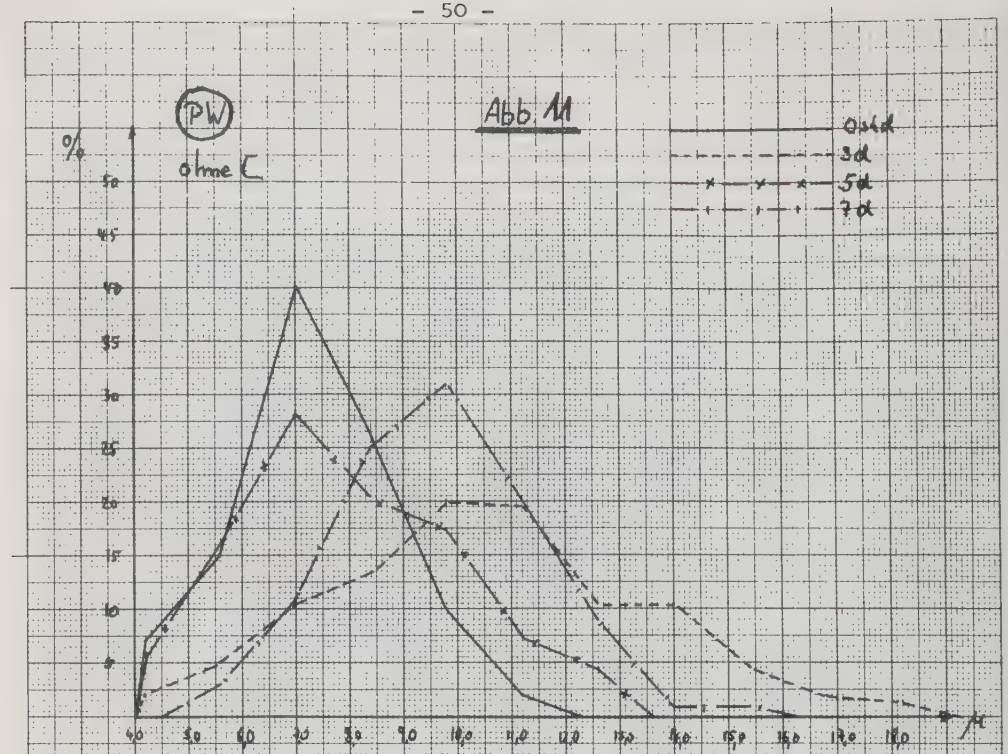


Abb 11

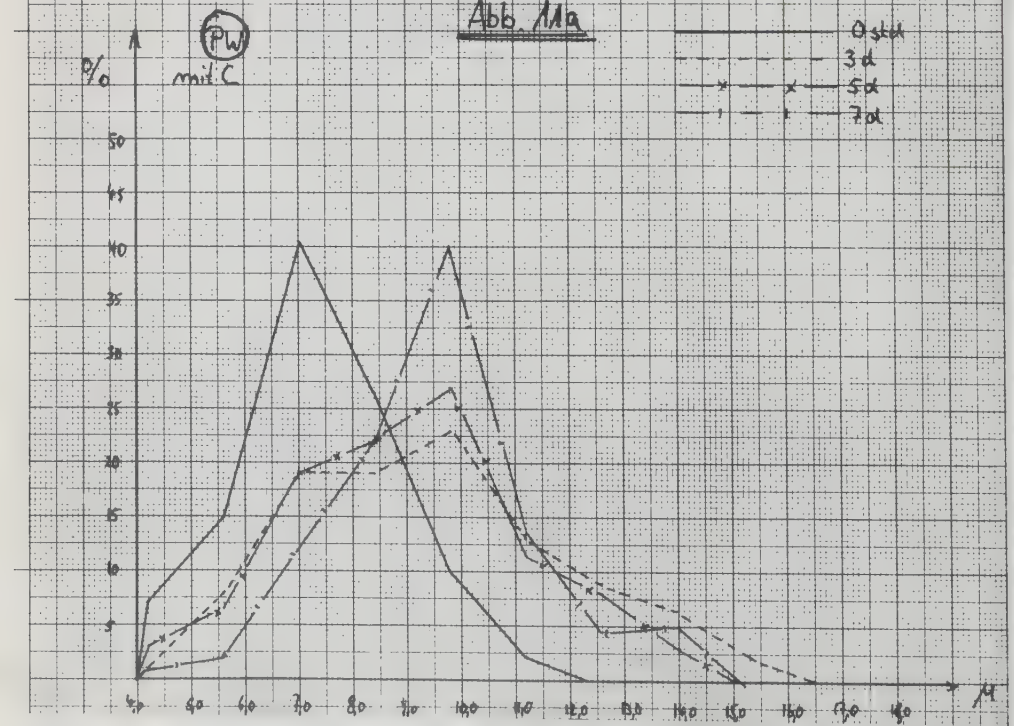
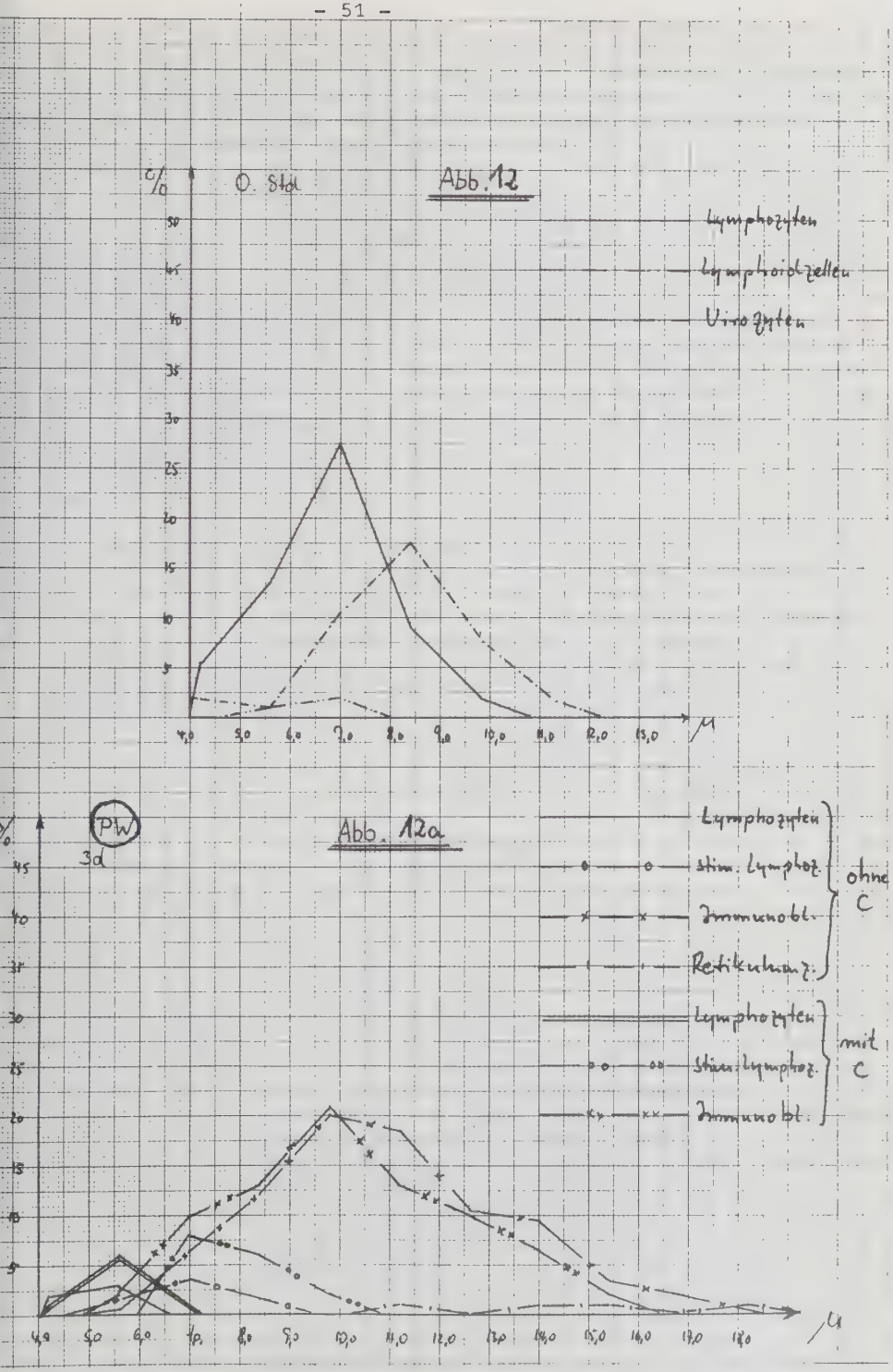


Abb 11a


%
0. Std
Abb. 12
Lymphozyten
Lymphoidzellen
Virozyten
50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
4,0
5,0
6,0
7,0
8,0
9,0
10,0
11,0
12,0
13,0
d
%
PW
3d
Abb. 12a
Lymphozyten
stim. Lymphoz.
Immunobl.
Retikulumz.
ohne C
Lymphozyten
stim. Lymphoz.
Immunobl.
mit C
45
40
35
30
25
20
15
10
5
4,0
5,0
6,0
7,0
8,0
9,0
10,0
11,0
12,0
13,0
14,0
15,0
16,0
17,0
18,0
d

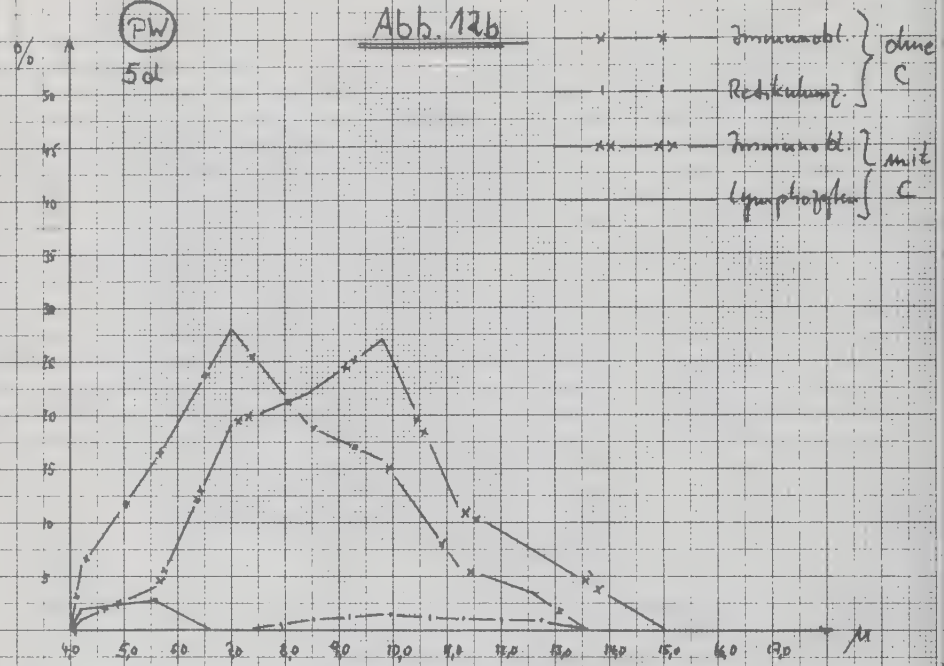


Abb. 12b

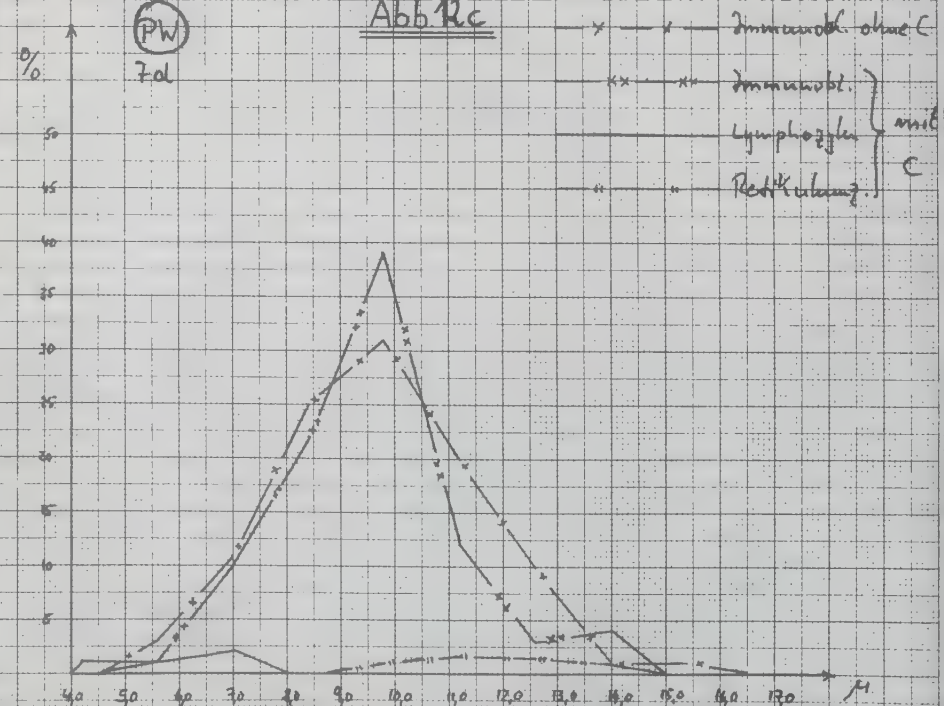


Abb. 12c

mit C ☒ ohne C ■

Tab. 6	3d	5d	7d	Mitosen insges.	3d	5d	7d	Mitosen insges.
Prophase	3	4	5	12	1	–	–	1
frühe Metaphase	4	12	12	28	1	1	1	3
späte Metaphase	–	–	–	–	1	–	–	1
Anaphase	–	–	–	–	–	–	–	–
Telophase	–	–	–	–	–	–	–	–
Rekonst.-phase	–	–	–	–	–	1	–	1
path. Mitose	1	–	2	3	–	–	–	–
Mitosen	8	16	19		3	2	1	
Gesamt-zellzahl	201	208	200		268	227	202	
Mitose-index	39‰	76‰	95‰		11‰	8‰	4‰	

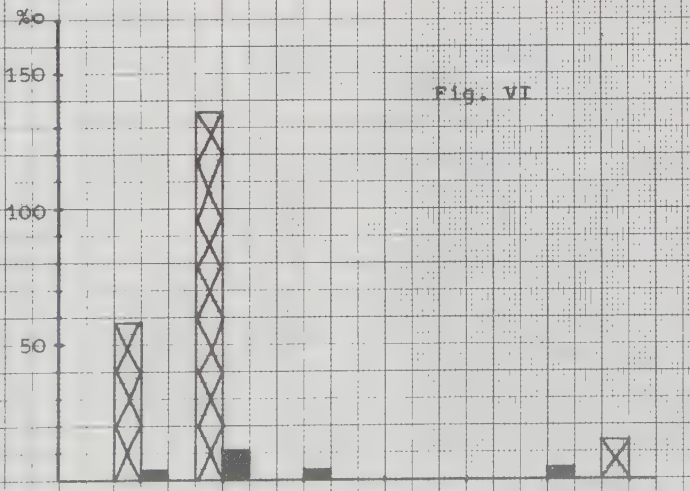


Fig. VI

Versuch VII: Pokeweed-Mitogen-Kultur des Venenblutes des Patienten C., 19 Jahre.

Diagnose: Mononucleosis infectiosa.

Laborbefunde:

Leukozyten:	7100/µl	Erythrozyten:	5,42 Mio/µl
Stabkernige:	3 %	Hb:	14,6 g%
Segmentkernige:	23 %	HbE:	27 pg
Lymphozyten:	65 %	Anisozytose:	+
Monozyten:	8 %	Poikilozytose:	+
Eosinophile:	1 %		

Erklärung zu den Abbildungen:

Abb. 13: Summenkurven aller gemessenen Zellkerne der Stichprobe.

Abb. 13a: Summenkurven aller gemessenen Zellkerne der Stichprobe mit Colcemid-Zusatz.

Abb. 14: Die verschiedenen, gemessenen Zellarten nach den gegebenen Zeitabständen:

Lymphozyten,
Lymphoidzellen,
Virozyten,
Stimulierte Lymphozyten,
Immunoblasten,
Retikulumzellen.

Abb. 14a: nach dem 3. d

Abb. 14b: nach dem 6. d

Abb. 14c: nach dem 8. d

Abszisse: Kerngrößendurchmesser in μ,

Ordinate: Häufigkeit in %.

PW = Pokeweed-Mitogen
C = Colcemid-Zusatz
d = Tage.

Versuch VII:

Die Summenkurven ohne Colcemid-Zusatz (Abb. 13) zeigen wie in vorherigen Versuchen in der 0. Std. kleine, nach 3 und 8 d vorwiegend größere Zellen. Am 6. d findet wieder eine Zellverkleinerung statt (8,4 μ), die in den Summenkurven mit Colcemid-Zusatz (Abb. 13a) fehlt.

Die Kurven der verschiedenen, gemessenen Zellarten zeigen auch hier einen ähnlichen Verlauf wie in den vorangegangenen Versuchen. In den Tageseinzeldarstellungen sind die Ergebnisse der Versuche am 3. und 8. d mit und ohne Colcemid etwa identisch. Am 6. d sind die Zellkerne ohne C wieder kleiner als mit C-Zusatz.

Mitoseindices und Mitosephasen-Verteilung zeigen Tab. 7 und Fig. VII. Alle Mitosen der mit Colcemid versetzten Kultur haben auch in diesem Versuch im Gegensatz zur Kontrollkultur das Stadium der Metaphase nicht überschritten. Der Mitoseindex steigt bis zum 6. Kulturtag auf einen maximalen Wert von 35 ‰ an, fällt dann jedoch wieder ab.

Abb 13

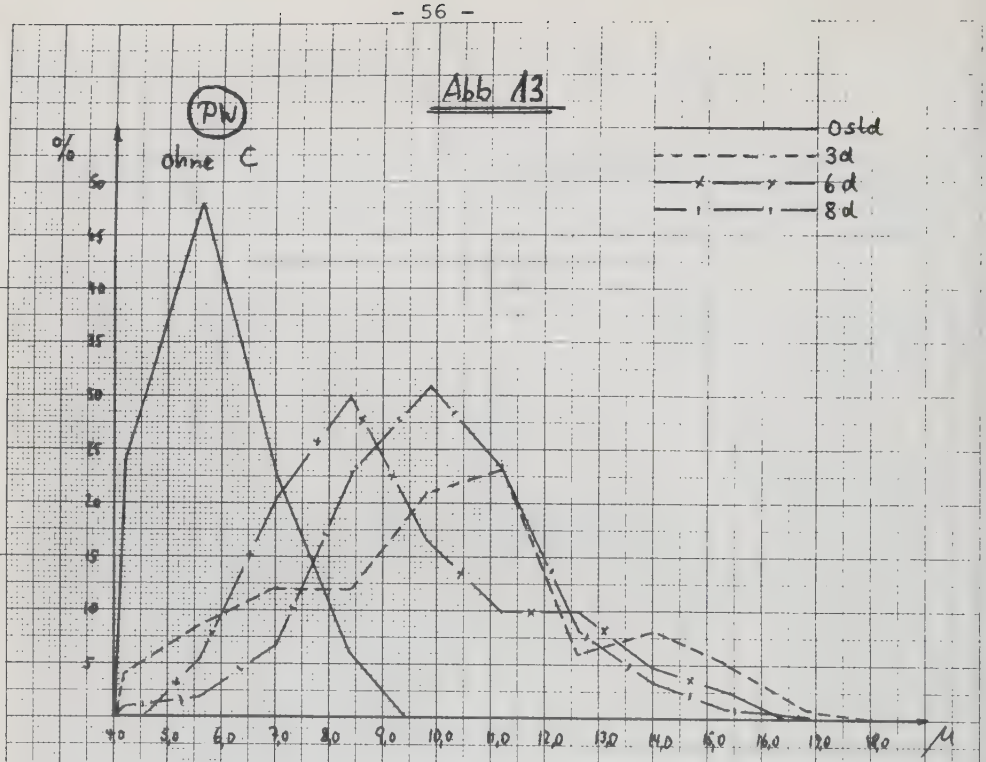


Abb 13a

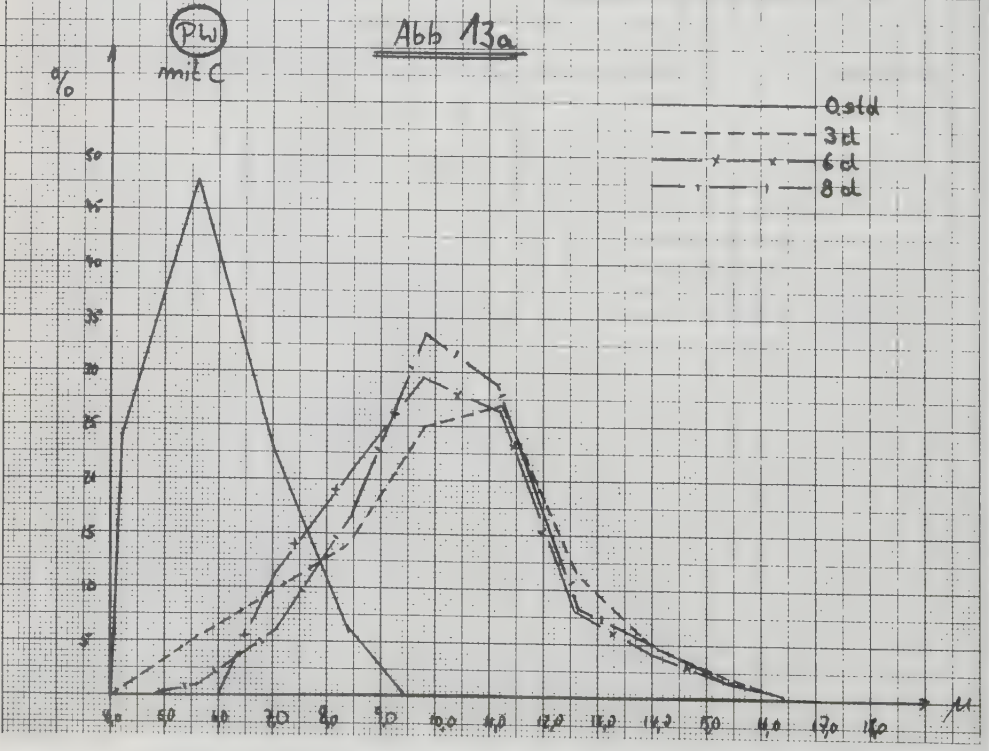


Abb. 14

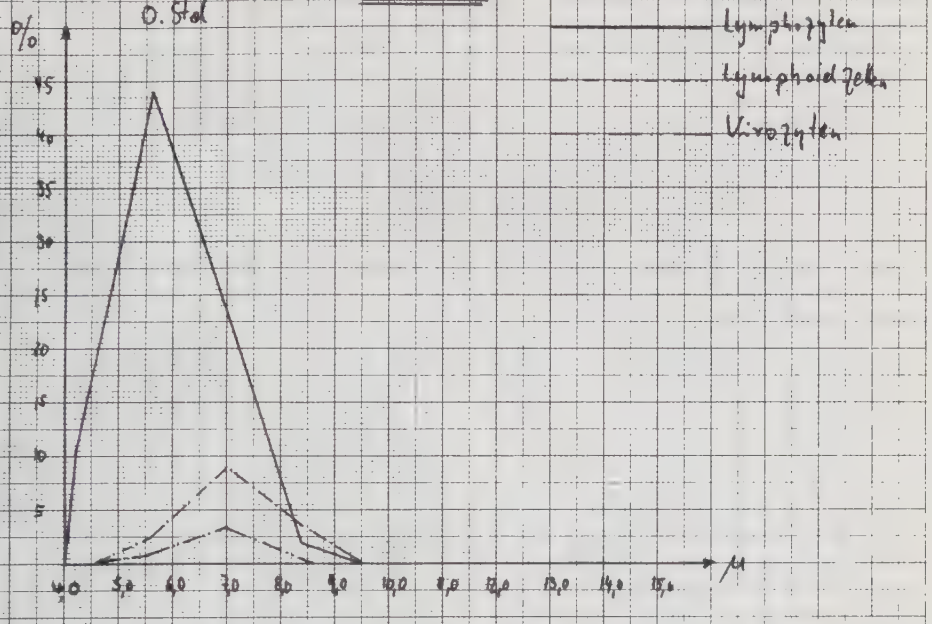


Abb. 14a

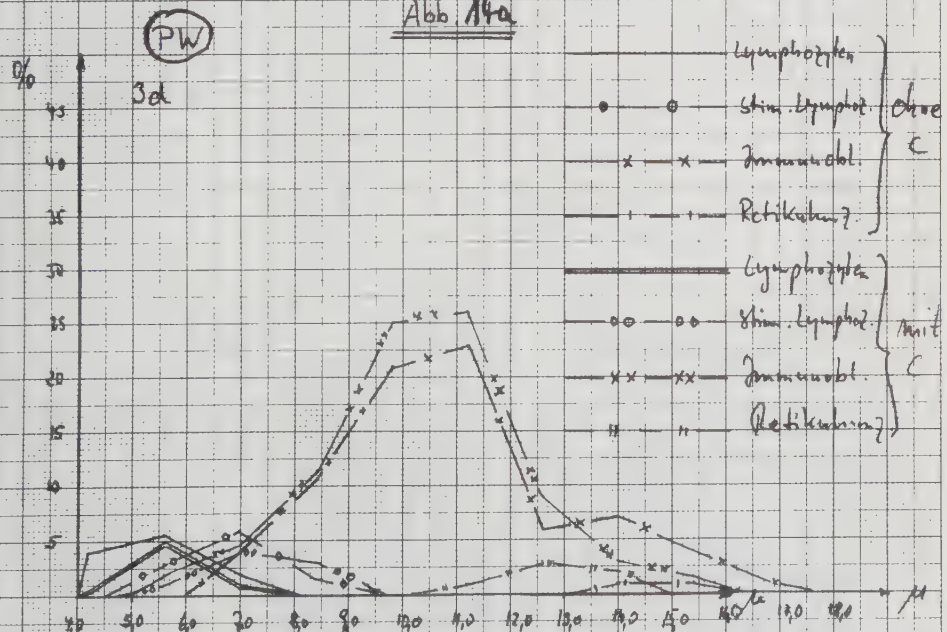


Abb 14b

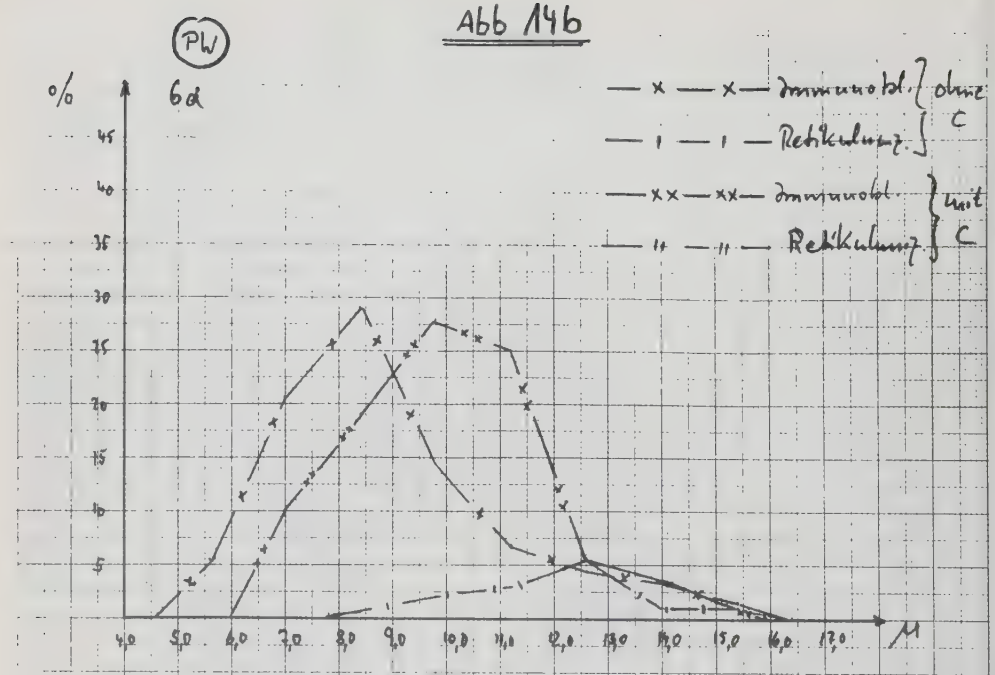
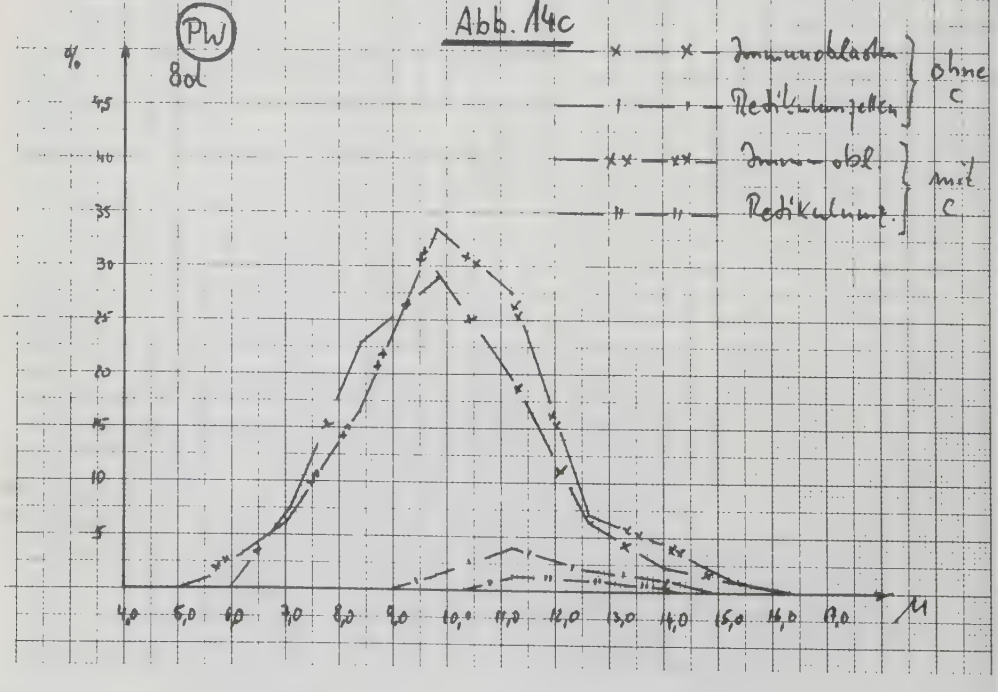


Abb. 14c



mit C ☒ ohne C ■

Tab. 7	3d	6d	8d	Mitosen insges.	3d	6d	8d	Mitosen insges.
Prophase	2	2	1	5	1	-	-	1
frühe Metaphase	2	5	3	10	-	1	-	1
späte Metaphase	-	-	-	-	1	-	1	2
Anaphase	-	-	-	-	-	1	-	1
Telophase	-	-	-	-	-	-	-	-
Rekonstr.-phase	-	-	-	-	-	-	-	-
path. Mitose	-	-	1	1	-	-	-	-
Mitosen	4	7	5		2	2	1	
Gesamt-zellzahl	200	200	203		201	200	200	
Mitose-index	20‰	35‰	24‰		9‰	10‰	5‰	

Fig. VII

Versuch VIII: Pokeweed-Mitogen-Kultur des Venenblutes der Patientin H., 78 Jahre.

Diagnose: Lymphosarkomatose.

Laborbefunde:

Leukozyten:	6500/μl	Erythrozyten:	4,43 Mio/μl
Stabkernige:	2 %	Hb:	12 g%
Segmentkernige:	72 %	HbE:	27,1 pg
Lymphozyten:	21 %		
Monozyten:	5 %		

Erklärung zu den Abbildungen:

Abb. 15 : Summenkurven aller gemessenen Zellkerne der Stichprobe.

Abb. 15a: Summenkurven aller gemessenen Zellkerne der Stichprobe mit Colcemid-Zusatz.

Abb. 16 : Die verschiedenen, gemessenen Zellarten nach den gegebenen Zeitabständen.

Lymphozyten,
Lymphoidzellen,
Virozyten,
Stimulierte Lymphozyten,
Immunoblasten,
Retikulumzellen.

Abb. 16a: nach dem 3. d

Abb. 16b: nach dem 5. d

Abb. 16c: nach dem 7. d

Abb. 16d: nach dem 10. d

Abszisse: Kerngrößendurchmesser in μ,

Ordinate: Häufigkeit in %.

PW = Pokeweed-Mitogen
C = Colcemid-Zusatz
d = Tage.

Versuch VIII:

Trotz wiederum vermehrter Lymphoidzellen mit Kerndurchmessern bis 11,2 μ im Ausgangsmaterial (Abb. 16) ist auch in diesem Versuch die Entstehung von kleineren Zellen bereits nach dem 5. d in den Summenkurven ohne C (Abb. 15) zu beobachten. Die Anzahl der kleineren Zellkerne nimmt bis zum 7. d des Kulturansatzes zu. Diese Zellkernverkleinerung zeigen die Summenkurven mit Colcemid-Zusatz (Abb. 15a) nicht.

Das Präparat des 3. d ohne C war nicht auswertbar, so daß hier kein Kurvenvergleich vorgenommen werden konnte. Am 5. d (Abb. 16b) und besonders am 7. d (Abb. 16c) sind die Zellkerne ohne C-Zusatz wieder kleiner als mit C-Zusatz. Die Kurven der verschiedenen, gemessenen Zellarten zeigen auch hier einen ähnlichen Verlauf wie in den früheren Versuchen. In den Tageseinzeldarstellungen sind die Ergebnisse des 10. d (Abb. 16d) mit und ohne C-Zusatz etwa identisch.

Mitoseindices und Mitosephasen-Verteilung zeigen Tab. 8 und Fig. VIII. Alle Mitosen der mit Colcemid versetzten Kultur haben im Gegensatz zur Kontrollkultur das Stadium der Metaphase nicht überschritten. Der Mitoseindex steigt bis zum 5. Kulturtag auf einen maximalen Wert von 83 ‰ an, fällt dann jedoch wieder ab.

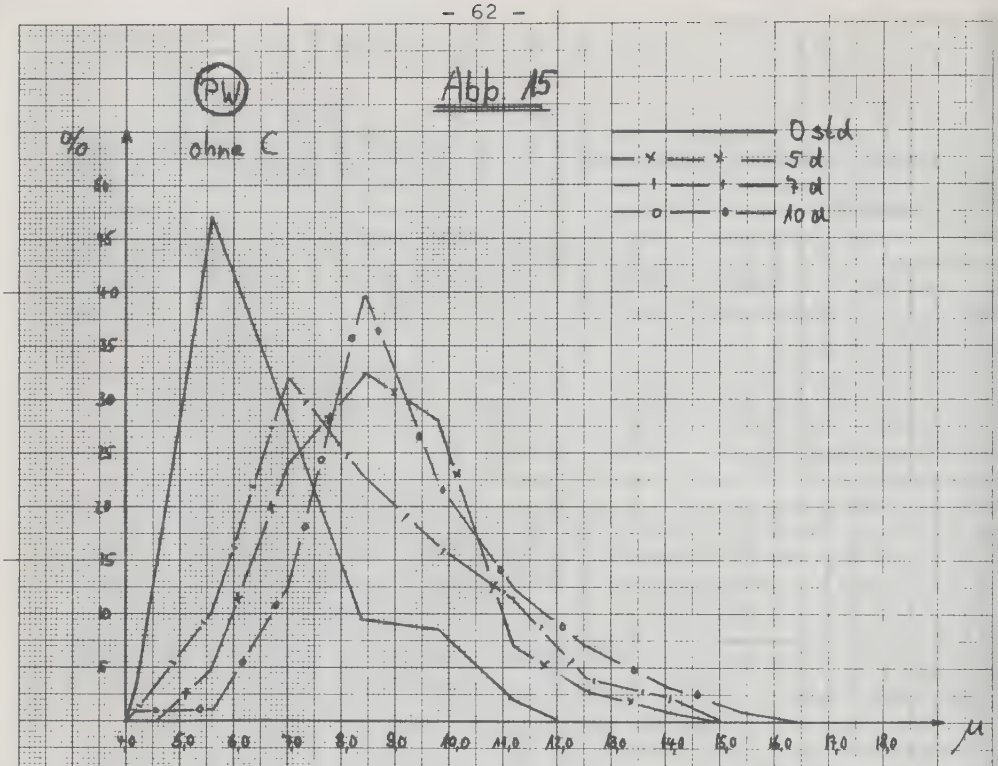


Abb. 15

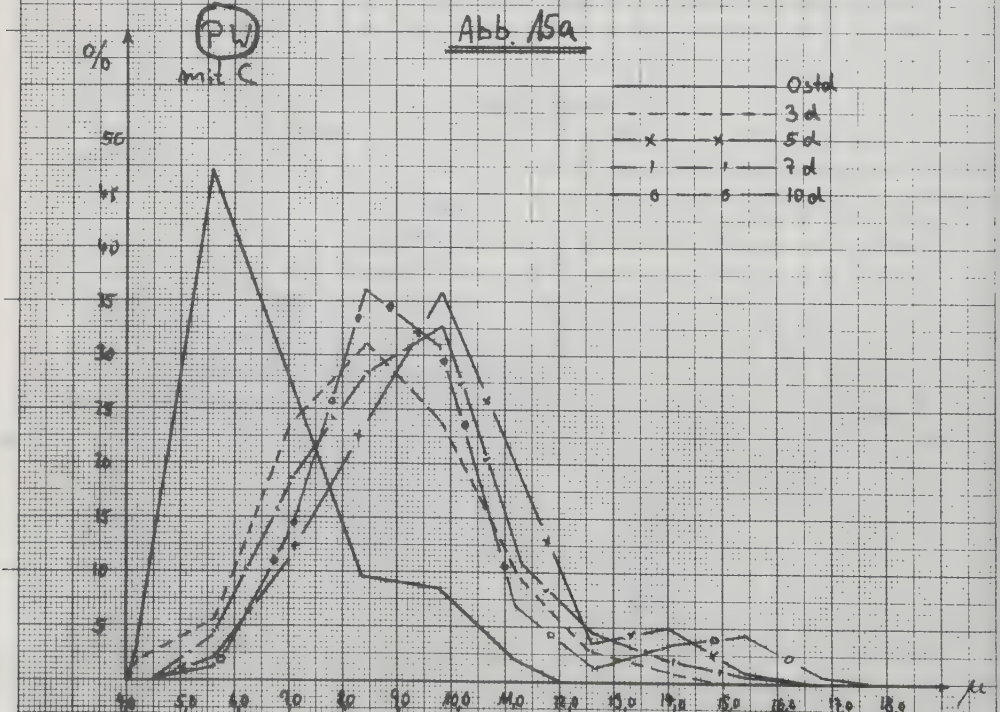
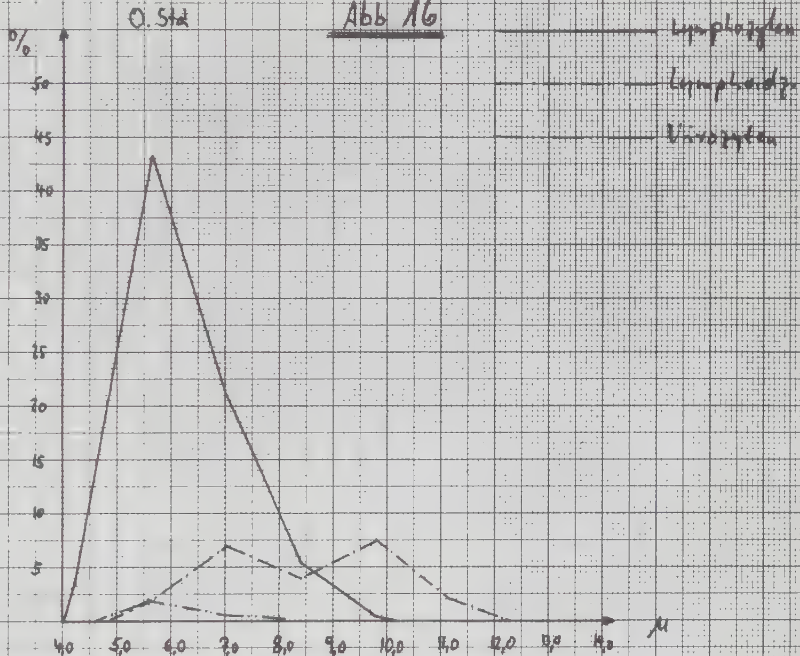
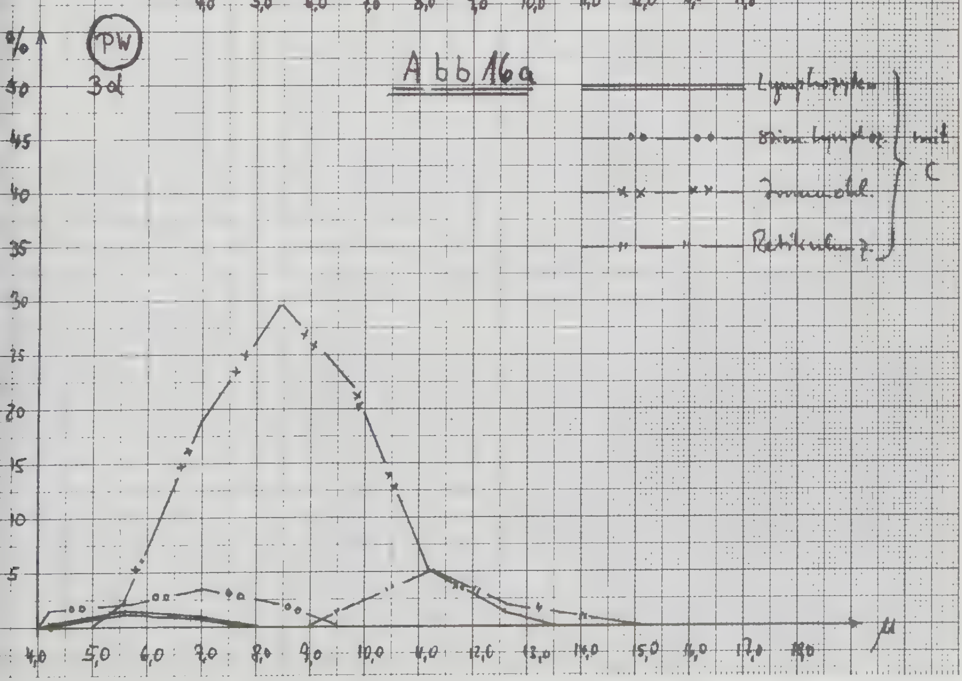


Abb. 15a


0. Std
Abb 16
%
4,0
5,0
6,0
7,0
8,0
9,0
10,0
11,0
12,0
13,0
14,0
μ


%
PW
3d
Abb 16a
mit
C
4,0
5,0
6,0
7,0
8,0
9,0
10,0
11,0
12,0
13,0
14,0
15,0
16,0
17,0
18,0
μ

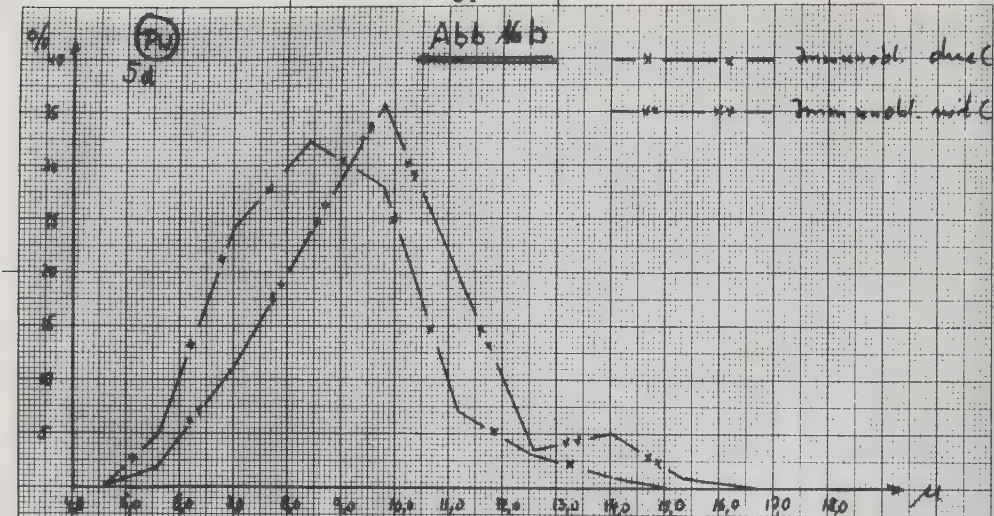


Abb 16b
%
Pu
5d
Immunobl. ohne C
Immunobl. mit C
4,0 5,0 6,0 7,0 8,0 9,0 10,0 11,0 12,0 13,0 14,0 15,0 16,0 17,0 18,0
µ

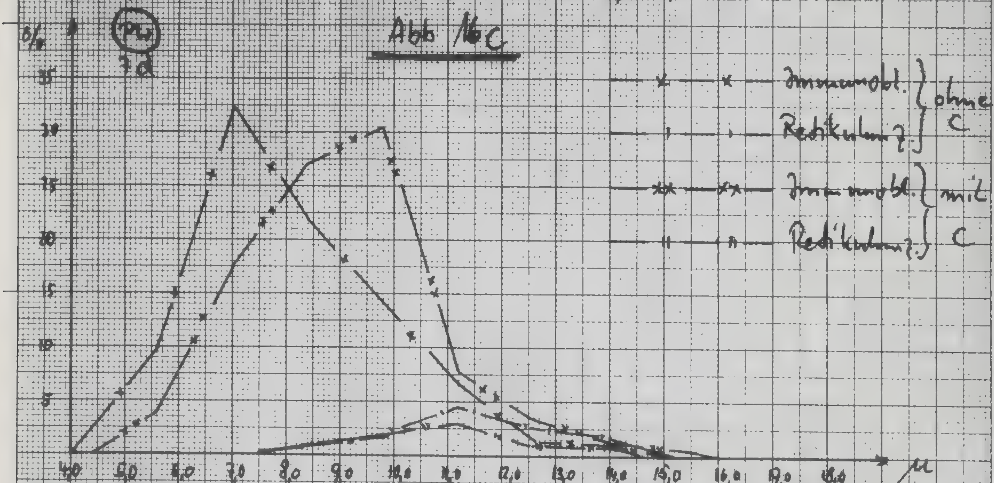


Abb 16c
%
Pu
7d
Immunobl. ohne C
Retikulumz. ohne C
Immunobl. mit C
Retikulumz. mit C
4,0 5,0 6,0 7,0 8,0 9,0 10,0 11,0 12,0 13,0 14,0 15,0 16,0 17,0 18,0
µ

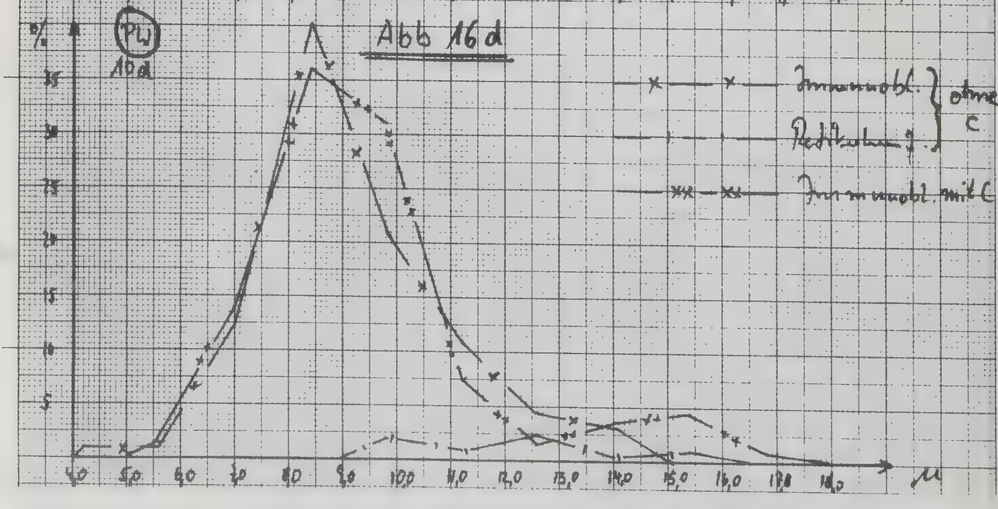


Abb 16d
%
Pu
10d
Immunobl. ohne C
Retikulumz. ohne C
Immunobl. mit C
4,0 5,0 6,0 7,0 8,0 9,0 10,0 11,0 12,0 13,0 14,0 15,0 16,0 17,0 18,0
µ

mit C ☒

sb. B	3d	5d	7d	10d	Mitosen insges.
ro-phase	4	5	4	3	16
rühe taph.	8	11	9	5	33
päte taph.	-	-	-	-	-
na-phase	-	-	-	-	-
elo-phase	-	-	-	-	-
ekonst. phase	-	-	-	-	-
ath. itose	-	1	-	-	1
itosen	12	17	13	8	
esamt-ellzahl	224	204	203	235	
ltose-ndex	53‰	83‰	64‰	34‰	

ohne C ■

3d	5d	7d	10d	Mitosen insges.
-	1	1	-	2
-	-	2	1	3
-	1	-	-	1
-	-	-	-	-
-	-	-	1	1
-	-	-	-	-
-	-	-	-	-
-	2	3	2	
-	200	212	212	
-	10‰	14‰	9‰	

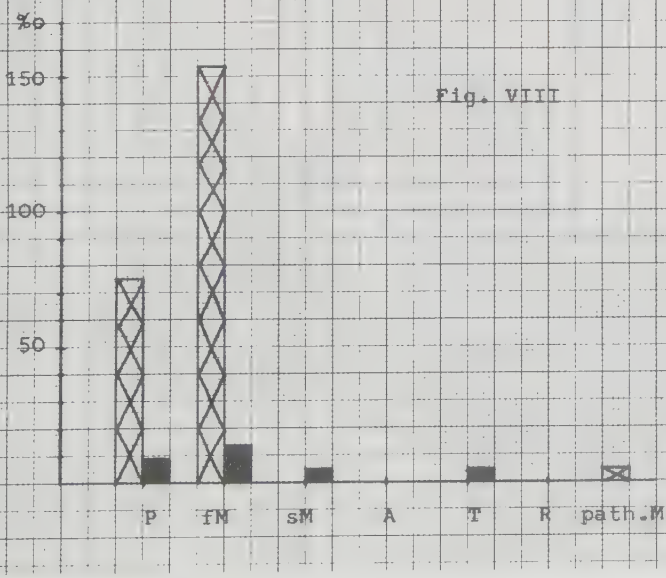


Fig. VIII

Versuch IX: Pokeweed-Mitogen-Kultur des Venenblutes des Patienten R., 71 Jahre.

Diagnose: Hinterwandinfarkt.

Laborbefunde:

Leukozyten:	12300/µl	Erythrozyten:	4,36 Mio/µl
Stabkernige:	1 %	Hb:	14 g%
Segmentkernige:	66 %	HbE:	32,1 pg
Lymphozyten:	28 %		
Monozyten:	5 %		

Erklärung zu den Abbildungen:

Abb. 17: Summenkurven aller gemessenen Zellkerne der Stichprobe.

Abb. 17a: Summenkurven aller gemessenen Zellkerne der Stichprobe mit Colcemid-Zusatz.

Abb. 18: Die verschiedenen, gemessenen Zellarten nach den gegebenen Zeitabständen.

Lymphozyten,
Lymphoidzellen,
Virozyten,
Stimulierte Lymphozyten,
Immunoblasten,
Retikulumzellen.

Abb. 18a: nach dem 3. d

Abb. 18b: nach dem 6. d

Abb. 18c: nach dem 8. d

Abb. 18d: nach dem 10. d

Abszisse: Kerngrößendurchmesser in μ ,

Ordinate: Häufigkeit in %.

PW = Pokeweed-Mitogen
C = Colcemid-Zusatz
d = Tage.

Versuch IX:

Die Summenkurven ohne C (Abb. 17) lassen folgendes erkennen: Im O-Std.-Präparat finden sich kleinere Zellen mit einem Kerndurchmesser von 7 μ in der Mehrzahl. Nach 3 d enthält die Kultur vorwiegend größere Zellen (9,8 - 11,2 μ). Am 6. und 10. d sind wieder kleinere Zellen zu beobachten, die am 8. d fehlen, bzw. an Größe zugenommen haben. Die Summenkurven der Präparate mit C (Abb. 17a) haben folgende Gipfel: Nach 3 d 11,2 μ , am 6., 8. und 10. d 9,8 μ . Es fehlen also beide Zellverkleinerungen.

Die Kurven der verschiedenen, gemessenen Zellarten zeigen in den Tageseinzeldarstellungen (Abb. 18 - 18d) am 3. und 8. d mit und ohne Colcemid-Zusatz ungefähr den gleichen Verlauf. Am 6. und 10. d sind die Zellkerne in der Kultur ohne C jedoch kleiner als in der Kultur mit C-Zusatz.

Mitoseindices und Mitosephasen-Verteilung zeigen Tab. 9 und Fig. IX. Alle Mitosen der mit Colcemid versetzten Kultur haben das Stadium der Metaphase im Gegensatz zur Kontrollkultur nicht überschritten. Der Mitoseindex steigt bis zum 6. Kulturtag auf einen maximalen Wert von 83 %o an und fällt dann wieder ab.

Abb 17

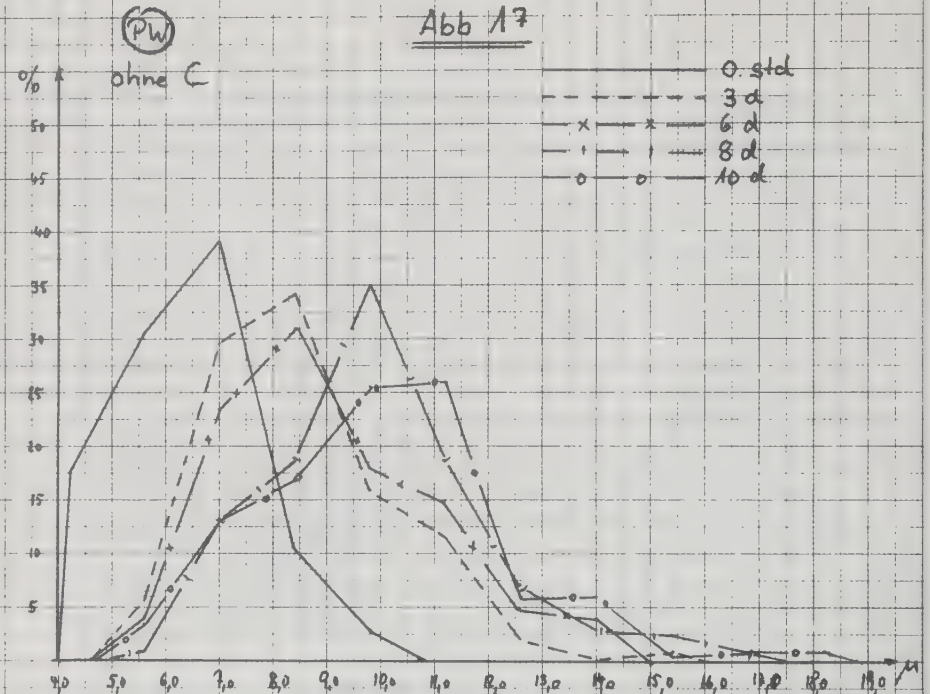
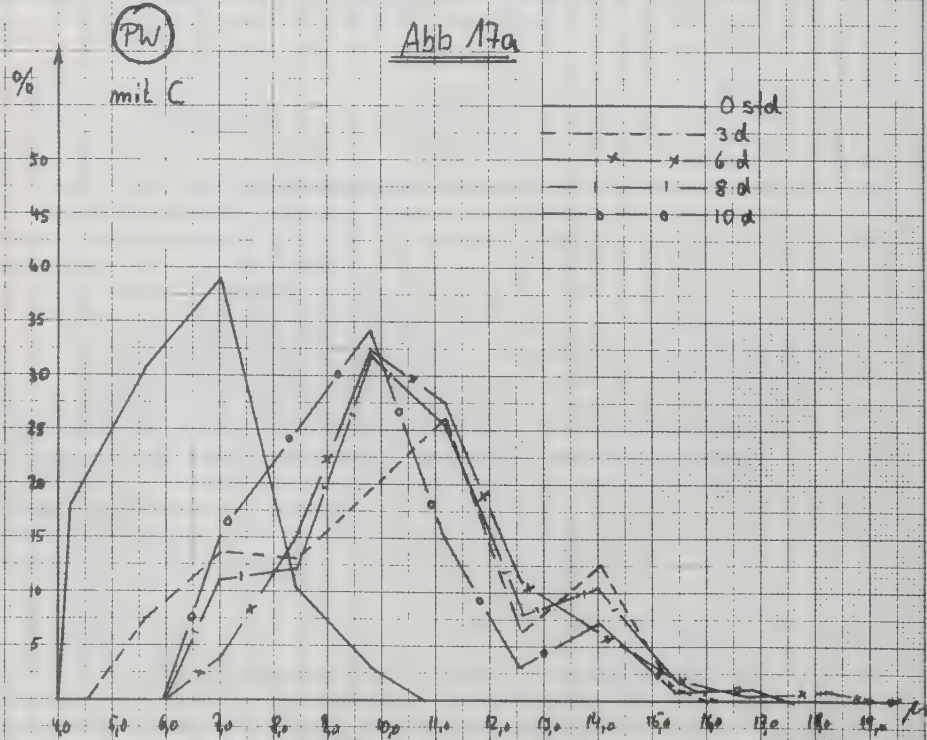
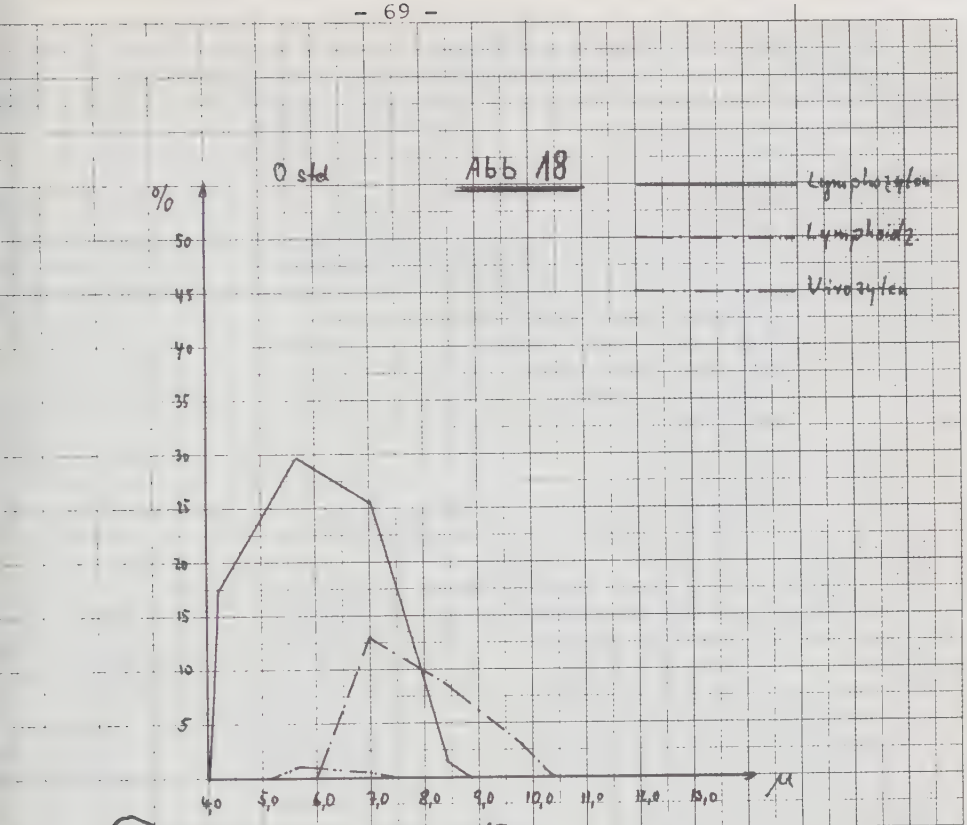
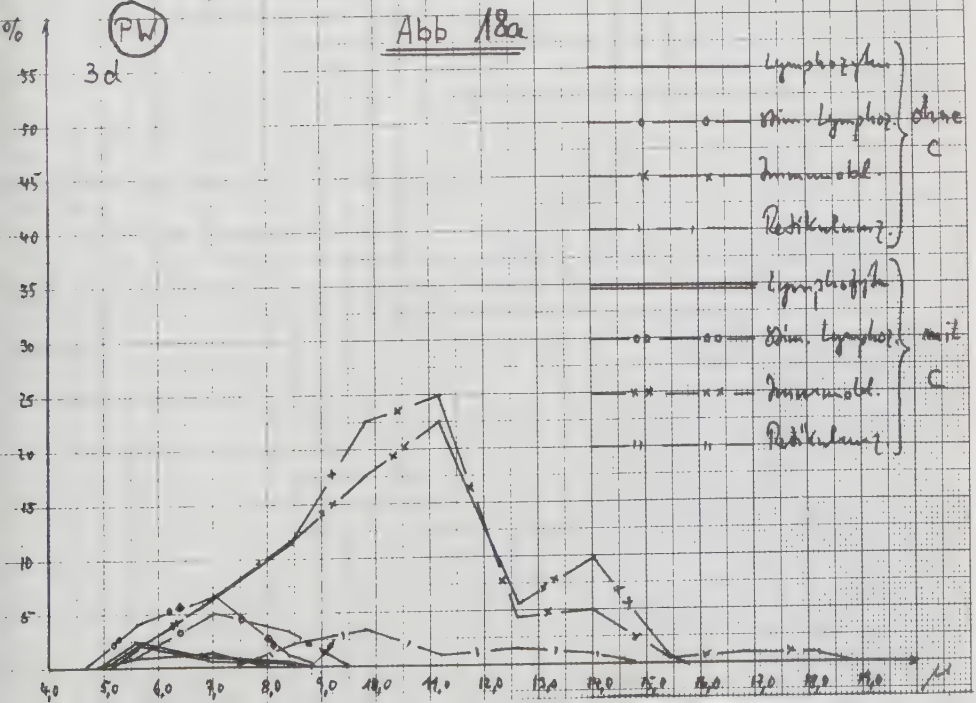
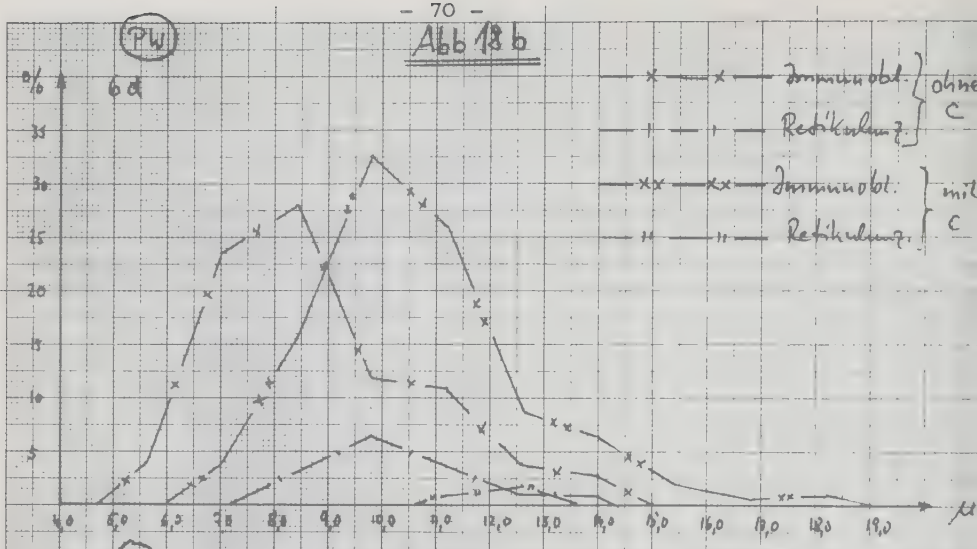


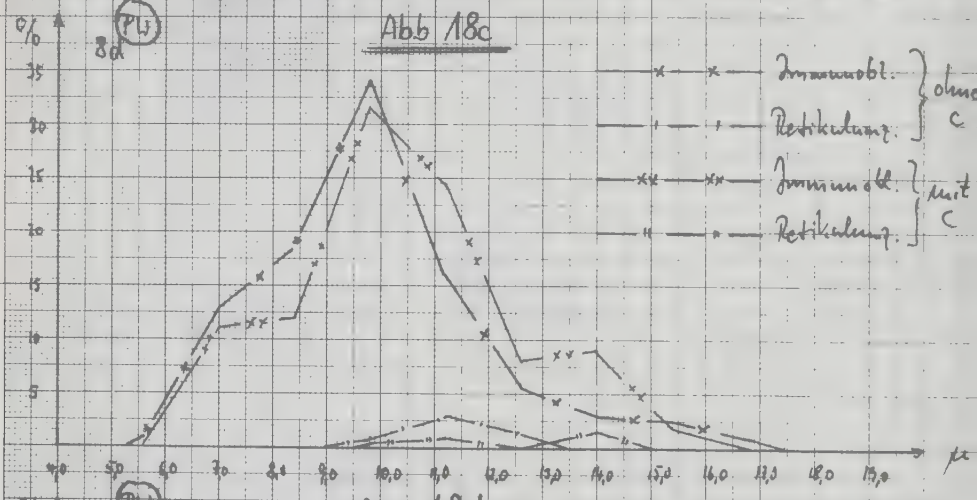
Abb 17a

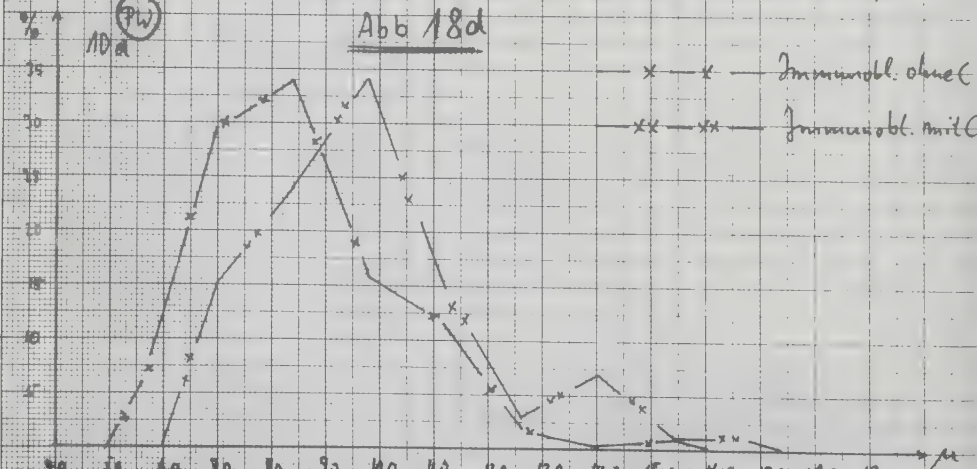



0 std
Abb 18
%
Lymphozyten
Lymphoidz.
Virozyten
50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
4,0
5,0
6,0
7,0
8,0
9,0
10,0
11,0
12,0
13,0
µ


PW
3d
Abb 18a
%
Lymphozyten
Virus-Lymphoz.
Immunobl.
Retikulumz.
ohne C
Lymphozyten
Virus-Lymphoz.
Immunobl.
Retikulumz.
mit C
35
30
25
20
15
10
5
4,0
5,0
6,0
7,0
8,0
9,0
10,0
11,0
12,0
µ


PW
6d
Abb 18b
%
Immunobl.
Retikulum z.
ohne C
mit C


PW
8d
Abb 18c
%
Immunobl.
Retikulum z.
ohne C
mit C


PW
10d
Abb 18d
%
Immunobl. ohne C
Immunobl. mit C

mit C ☒ ohne C ■

Tab. 9	3d	6d	8d	10d	Mitosen insges.	3d	6d	8d	10d	Mitosen insges.
Pro-phase	3	6	3	1	13	1	-	1	-	2
frühe Metaph.	7	11	8	5	31	1	1	-	1	3
späte Metaph.	-	-	1	-	1	-	1	-	-	1
Ana-phase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Telo-phase	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1
Rekonst. phase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
path. Mitose	-	-	1	2	3	-	-	-	-	-
Mitosen	10	17	13	8		2	3	1	1	
Gesamt-zellzahl	260	204	204	200		215	265	200	224	
Mitose-index	38‰	83‰	63‰	40‰		9‰	11‰	5‰	4‰	

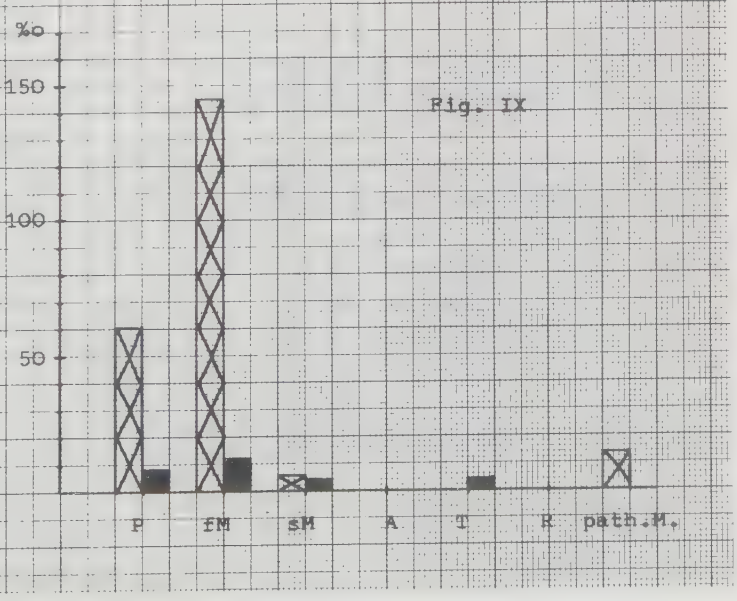


Fig. IX

Versuch X: Pokeweed-Mitogen-Kultur des Venenblutes des Patienten F., 67 Jahre.

Diagnose: Lymphoretikulosarkom mit Lymphostase im Genitalbereich und rechten Bein.

Laborbefunde:

Leukozyten:	7700/µl	Erythrozyten:	3,53 Mio/µl
Stabkernige:	2 %	Hb:	12,6 g%
Segmentkernige:	49 %	HbE:	35 pg
Lymphozyten:	38 %	Thrombozyten:	54000/µl
Eosinophile:	1 %		
Promyelozyten:	3 %		
Basophile:	2 %		
Monozyten:	3 %		
Myelozyten:	2 %		

Erklärung zu den Abbildungen:

Abb. 19: Summenkurven aller gemessenen Zellkerne der Stichprobe.

Abb. 19a: Summenkurven aller gemessenen Zellkerne der Stichprobe mit Colcemid-Zusatz.

Abb. 20: Die verschiedenen, gemessenen Zellarten nach den gegebenen Zeitabständen:

Lymphozyten,
Lymphoidzellen,
Virozyten,
Stimulierte Lymphozyten,
Immunoblasten,
Retikulumzellen.

Abb. 20a: nach dem 3. d

Abb. 20b: nach dem 6. d

Abb. 20c: nach dem 8. d

Abb. 20d: nach dem 10. d

Abszisse: Kerngrößendurchmesser in μ,

Ordinate: Häufigkeit in %.

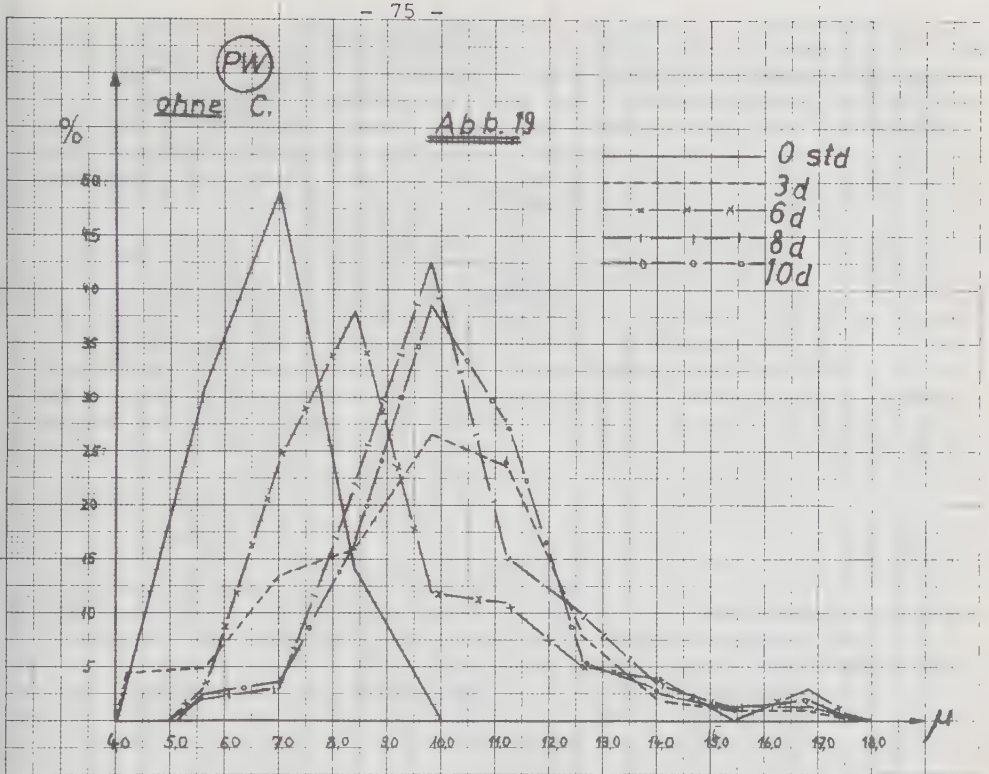
PW = Pokeweed-Mitogen
C = Colcemid-Zusatz
d = Tage.

Versuch X:

Die Summenkurven ohne Colcemid-Zusatz (Abb. 19) zeigen folgendes: Im O-Std.-Präparat finden sich wiederum vorwiegend Zellen mit kleinem Kerndurchmesser (5,6 - 7μ). Nach 3 d zeigen sich Zellen mit größeren Kerndurchmessern (9,8 - 11,2μ). Am 6. d enthält die Kultur wieder viele Zellen mit kleinerem Kerndurchmesser (7 - 8,4μ), der sich jedoch nach weiteren 2 d wieder vergrößert (9,8μ). Am 10. d sind nur noch größere Zellen zu beobachten (9,8 - 11,2μ). Die Summenkurven mit C (Abb. 19a) zeigen im Gegensatz zur Kultur ohne C auch nach längerer Kultivierungszeit keine Zunahme kleinerer Zellen.

Die Kurven der verschiedenen, gemessenen Zellarten zeigen auch hier einen ähnlichen Verlauf wie in den früheren Versuchen. In den Tageseinzeldarstellungen (Abb. 20 - 20d) sind die Ergebnisse der Versuche am 3. und 10. d mit und ohne Colcemid-Zusatz etwa identisch. Am 6. d (Abb. 20b) sind die Zellkerne der Immunoblasten ohne C wieder kleiner als mit C-Zusatz, ebenso am 8. d (Abb. 20c).

Mitoseindices und Mitosephasen-Verteilung zeigen Tab. 10 und Fig. X. Alle Mitosen der mit Colcemid versetzten Kultur haben auch in diesem Versuch im Gegensatz zur Kontrollkultur das Stadium der Metaphase nicht überschritten. Der Mitoseindex steigt bis zum 6. Kulturtag auf einen maximalen Wert von 93 %o an und fällt dann wieder ab.


PW
ohne C.
%
Abb. 19
0 std
3 d
6 d
8 d
10 d
μ

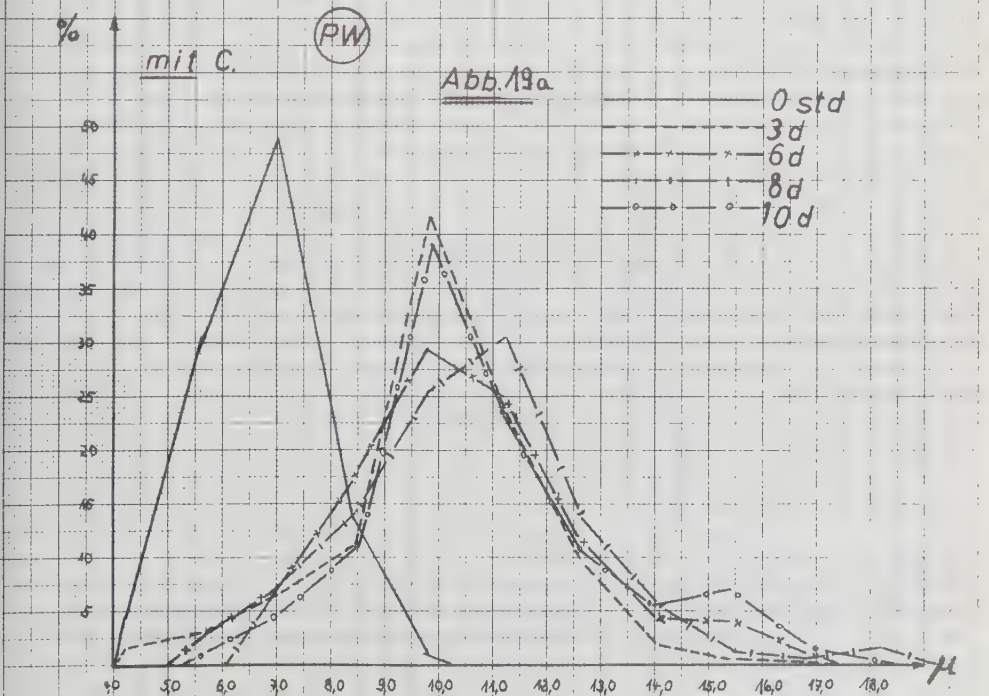

%
PW
mit C.
Abb. 19a
0 std
3 d
6 d
8 d
10 d
μ

Abb. 20

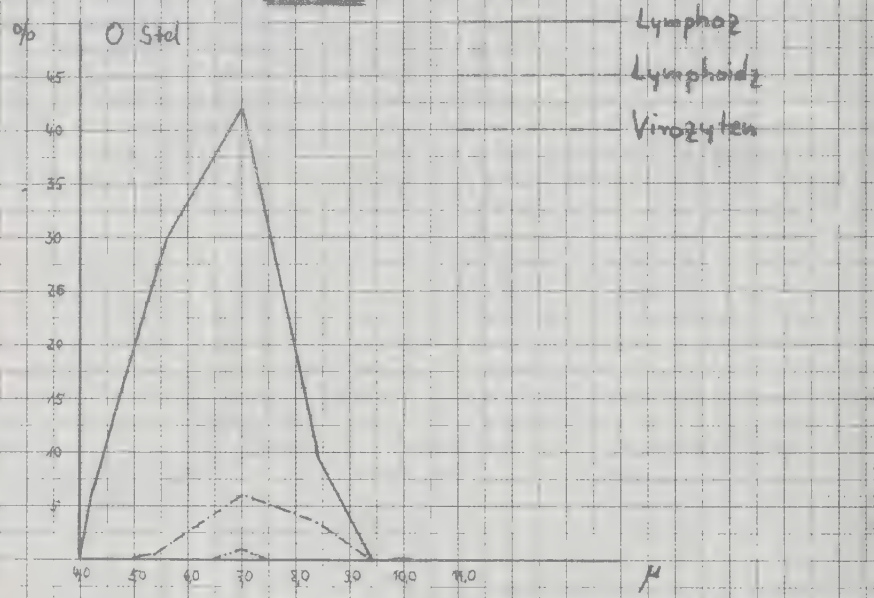
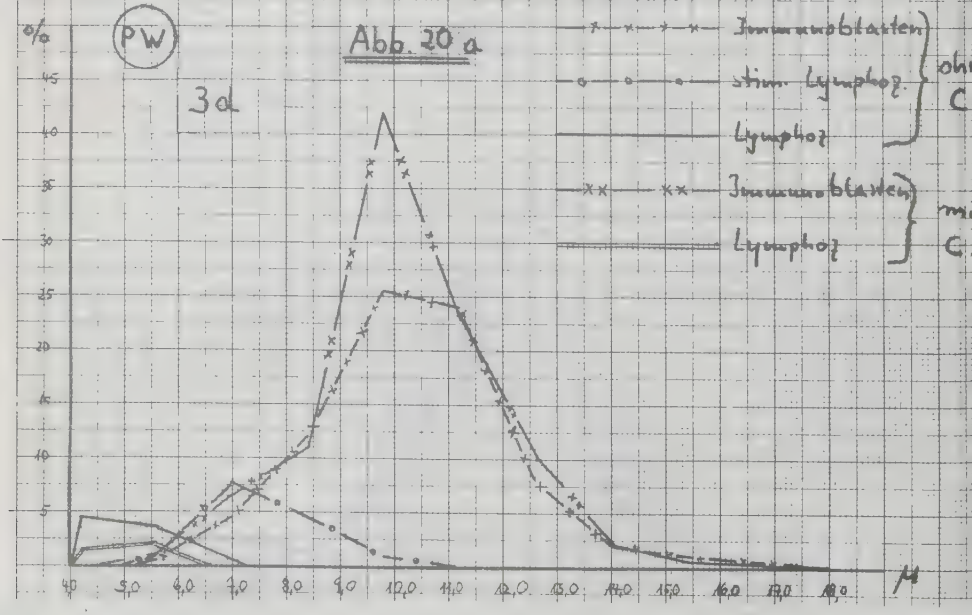
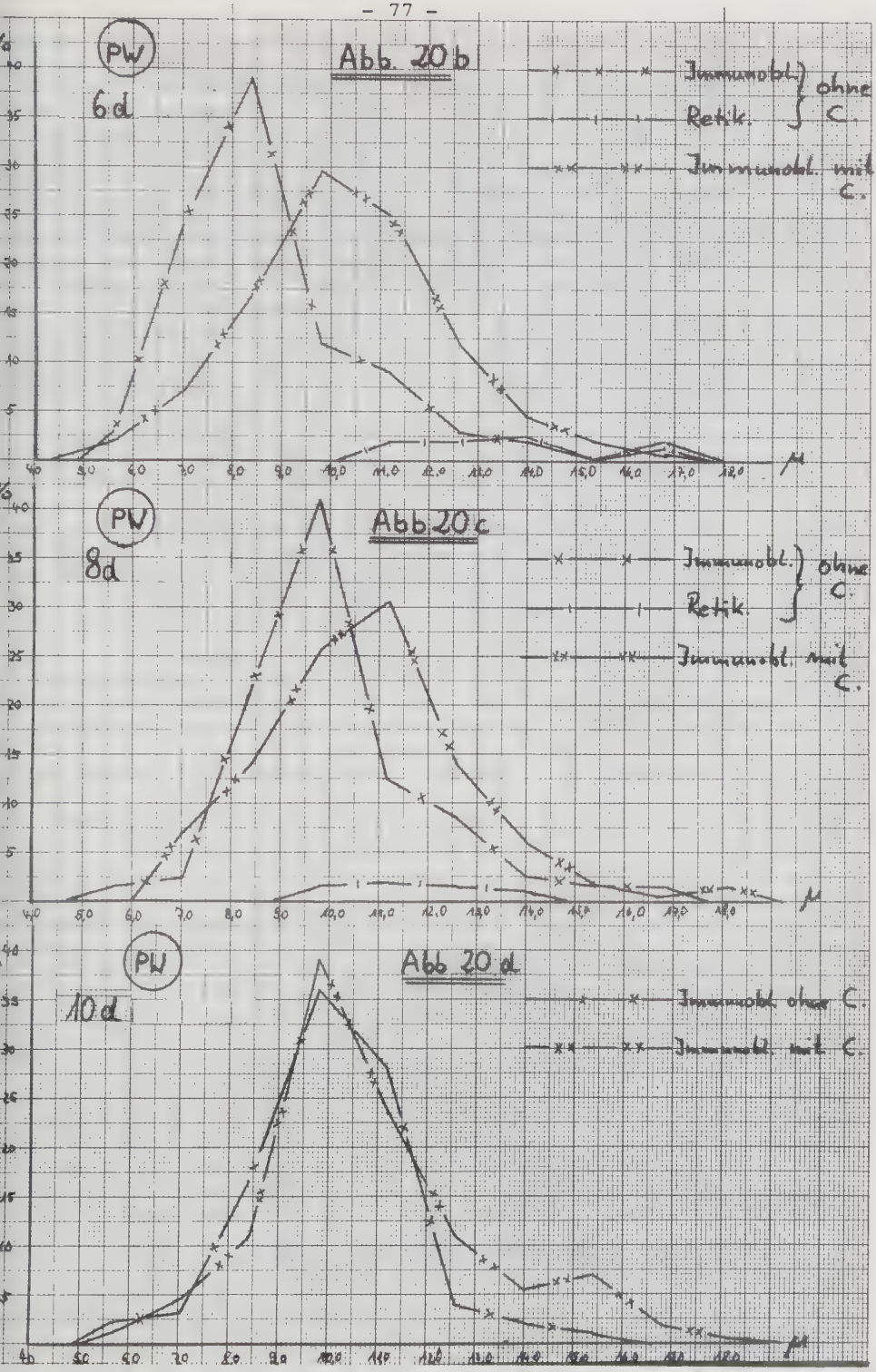


Abb. 20 a




PW
6d
Abb. 20b
Immunobl. ohne C.
Retik.
Immunobl. mit C.
PW
8d
Abb 20c
Immunobl. ohne C.
Retik.
Immunobl. mit C.
PW
10d
Abb 20d
Immunobl. ohne C.
Immunobl. mit C.

Tab. 10	mit C ☒ 3d	6d	8d	10d	Mitosen insges.	ohne C ■ 3d	6d	8d	10d	Mitosen insges.
Prophase	3	5	4	2	14	1	-	1	-	2
frühe Metaph.	5	12	7	4	28	-	1	-	1	2
späte Metaph.	-	-	1	-	1	1	-	-	-	1
Anaphase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Telophase	-	-	-	-	-	1	1	-	-	2
Rekonst. phase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
path. Mitose	-	2	-	-	2	-	-	-	-	-
Mitosen	8	19	12	6		3	2	1	1	
Gesamtzellz.	216	204	203	219		234	217	203	223	
Mitoseindex	37‰	93‰	59‰	27‰		12‰	9‰	4‰	4‰	

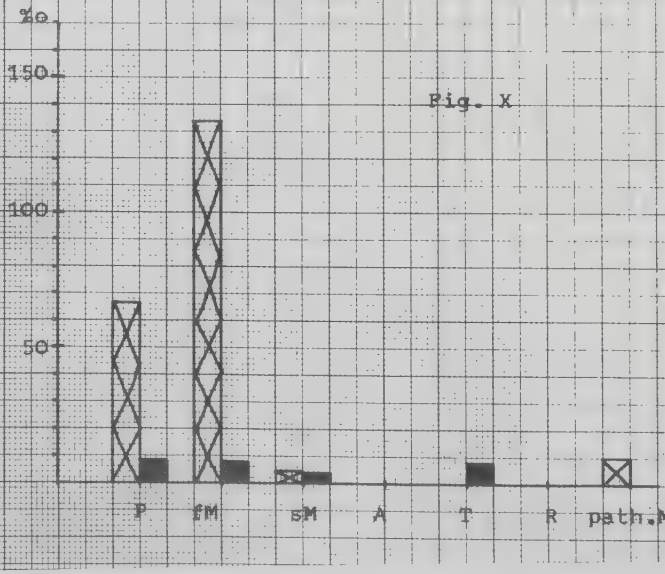


Fig. X

Versuch XI: Phytohämagglutinin-Kultur des Venenblutes der Patientin C., 60 Jahre.

Diagnose: Nierenzyste re., Knochenzyste Fibula re.

Laborbefunde:

Leukozyten:	8200/µl	Erythrozyten:	4,25 Mio/µl
Stabkernige:	3 %	Hb:	13 g%
Segmentkernige:	59 %	HbE:	30 pg
Lymphozyten:	29 %	Anisocytose:	+
Monozyten:	9 %	Poikilocytose:	+
Thrombozyten:	280000/µl		

Erklärung zu den Abbildungen:

Abb. 21: Summenkurven aller gemessenen Zellkerne der Stichprobe.

Abb. 21a: Summenkurven aller gemessenen Zellkerne der Stichprobe mit Colcemid-Zusatz.

Abb. 22: Die verschiedenen, gemessenen Zellarten nach den gegebenen Zeitabständen:

Lymphozyten,
Lymphoidzellen,
Virozyten,
Stimulierte Lymphozyten,
Immunoblasten,
Retikulumzellen.

Abb. 22a: nach dem 3. d

Abb. 22b: nach dem 5. d

Abb. 22c: nach dem 7. d

Abszisse: Kerngrößendurchmesser in μ,

Ordinate: Häufigkeit in %.

PH = Phytohämagglutinin
C = Colcemid-Zusatz
d = Tage.

Versuch XI:

Die Summenkurven ohne C (Abb. 21) zeigen folgendes: Im O-Std.-Präparat finden sich wieder in der Mehrzahl Zellen mit kleinerem Kerndurchmesser (5,6 - 7 μ), während am 3. d vermehrt größere Zellen zu finden sind. Am 5. d enthält die Kultur wieder Zellen mit kleinerem Kerndurchmesser, die sich in den folgenden zwei Tagen weiter vermehren. Was weiter aus diesen Zellen wird, konnte nicht verfolgt werden, da es in diesem Versuch kein auswertbares Präparat des 8. und 10. d gab.

Die Summenkurven der Kultur mit C-Zusatz (Abb. 21a) lassen am 3. d bei 7 - 8,4 μ die meisten Zellen erkennen. Der Gipfel liegt am 5. d bei 7 μ, am 7. d bei 8,4 μ.

Die verschiedenen, gemessenen Zellarten zeigen in den Tageseinzeldarstellungen folgendes Ergebnis: Im O-Std.-Präparat (Abb. 22) stellen sehr kleine Lymphozyten (5,6 μ) den Hauptteil der Zellen dar (88,5 %). Am 3. d (Abb. 22a) sind die Zellkerndurchmesser mit und ohne Colcemid-Zusatz etwa identisch. Am 5. Kulturtag (Abb. 22b) sind im Ausstrichpräparat ohne C bereits kleinere Immunoblastenkerne zu beobachten, die am 7. d (Abb. 22c) in starkem Maße vorhanden sind. In den Kulturausstrichen mit C-Zusatz ist diese Zellkernverkleinerung nicht zu finden.

Mitoseindices und Mitosephasen-Verteilung zeigen Tab. 11 und Fig. XI. Alle Mitosen der mit Colcemid versetzten Kultur haben im Gegensatz zur Kontrollkultur das Stadium der Metaphase nicht überschritten. Der Mitoseindex steigt bis zum 5. Kulturtag auf einen maximalen Wert von 126 ‰ an.

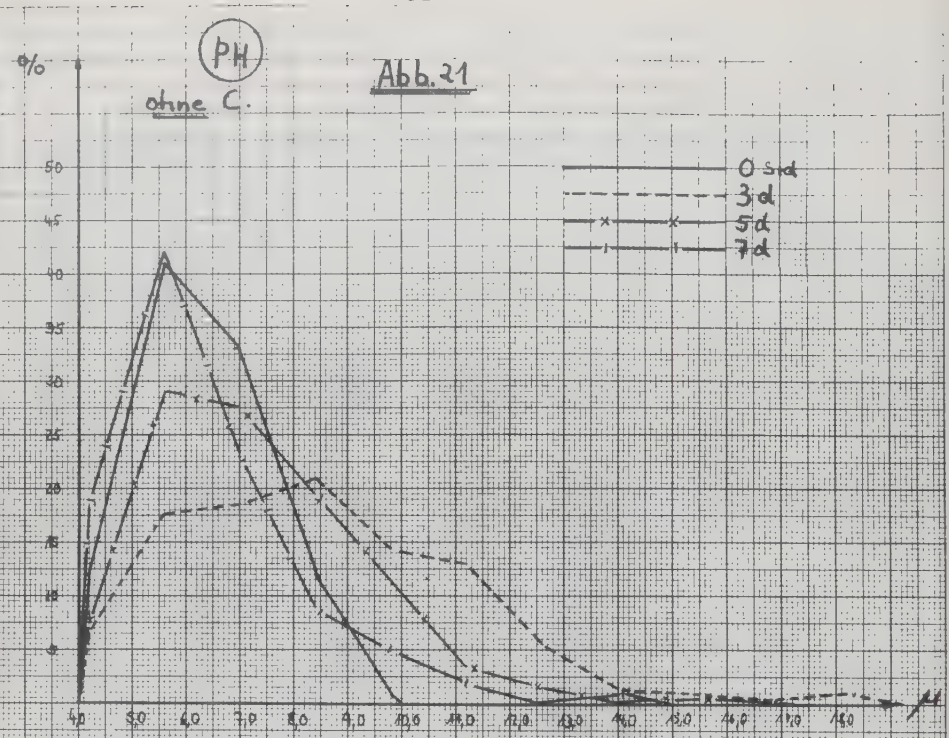


Abb. 21

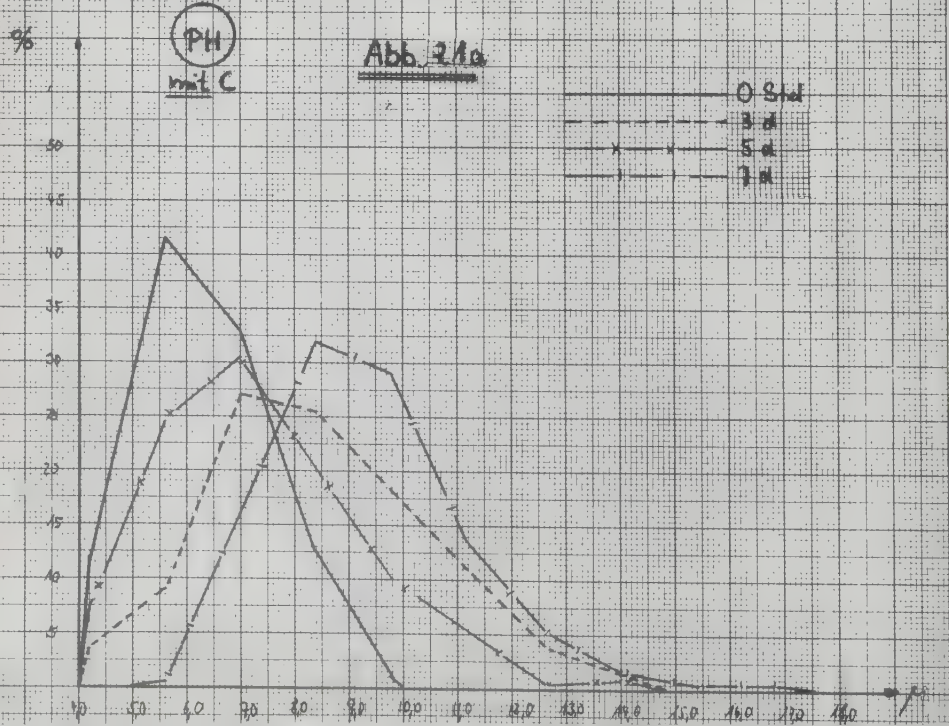


Abb. 21a

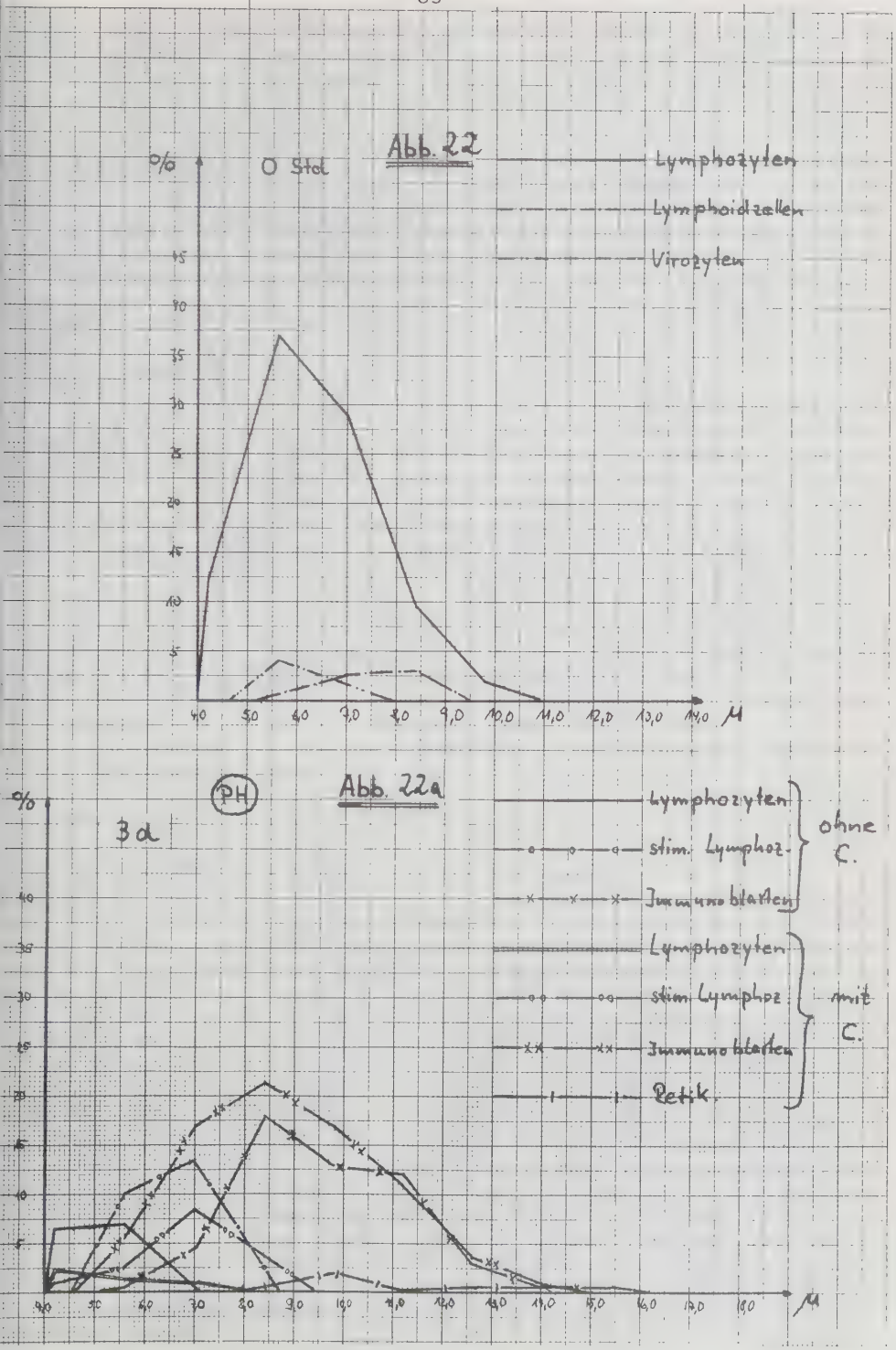
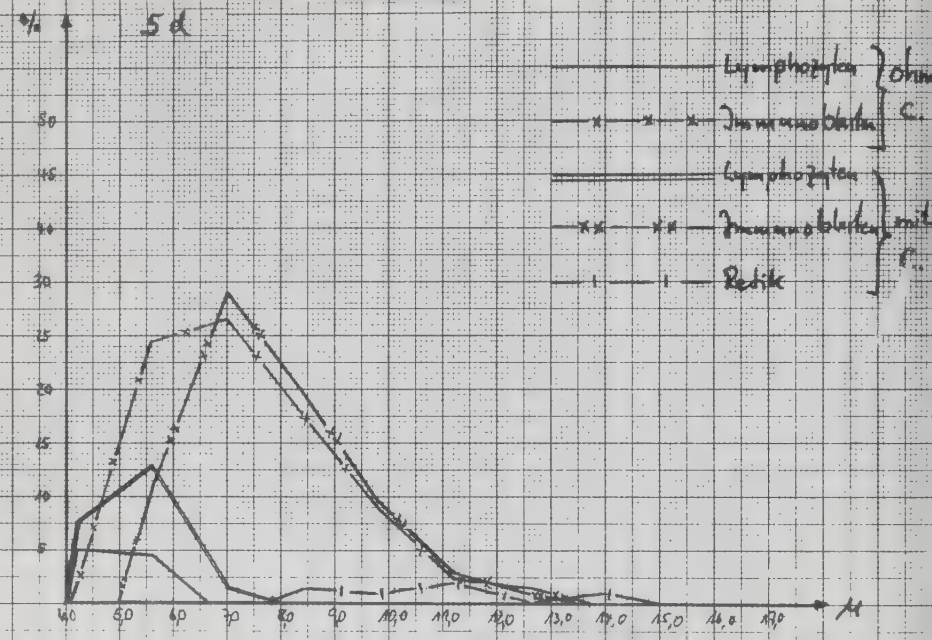
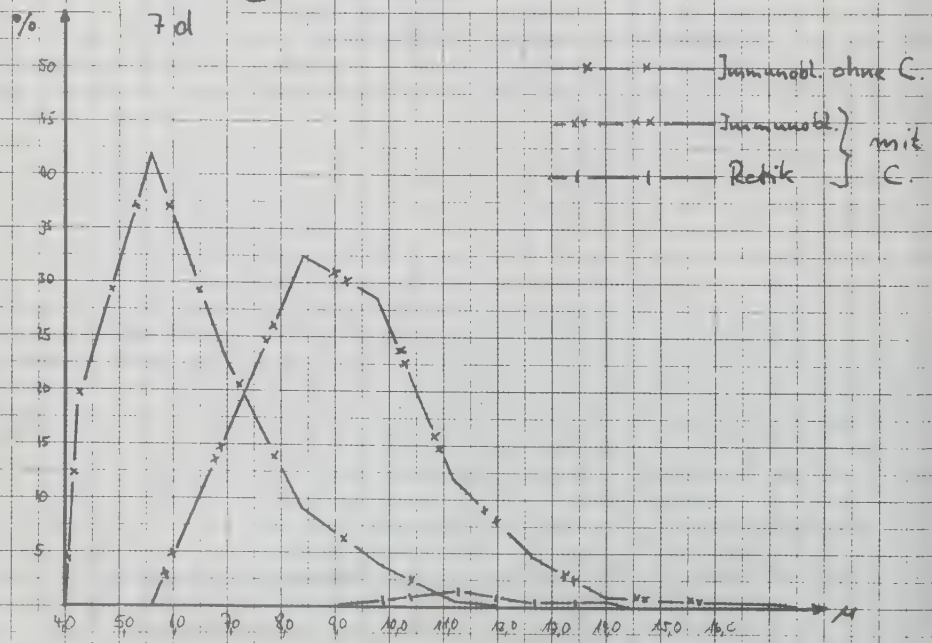


Abb. 22
%
0 Std
Lymphozyten
Lymphoidzellen
Virozyten
µ
Abb. 22a
PH
3 d
Lymphozyten
stim. Lymphoz.
Immunoblasten
ohne C.
Lymphozyten
stim. Lymphoz.
Immunoblasten
Retik.
mit C.

PH Abb 22b



PH Abb. 22c



mit C ⊠ ohne C ■

Tab. 11	3d	5d	7d	Mitosen insges.	3d	5d	7d	Mitosen insges.
Prophase	1	8	5	14	1	-	-	1
frühe Metaphase	4	18	13	35	1	1	2	4
späte Metaphase	-	1	-	1	-	1	-	1
Anaphase	-	-	-	-	-	-	-	-
Telophase	-	-	-	-	-	-	1	1
Rekonstr.-phase	-	-	-	-	-	1	-	1
pathol. Mitose	-	2	1	3	-	-	-	-
Mitosen	5	29	19		2	3	3	
Gesamt-zellzahl	212	229	209		201	211	215	
Mitose-index	23‰	126‰	90‰		9‰	14‰	13‰	

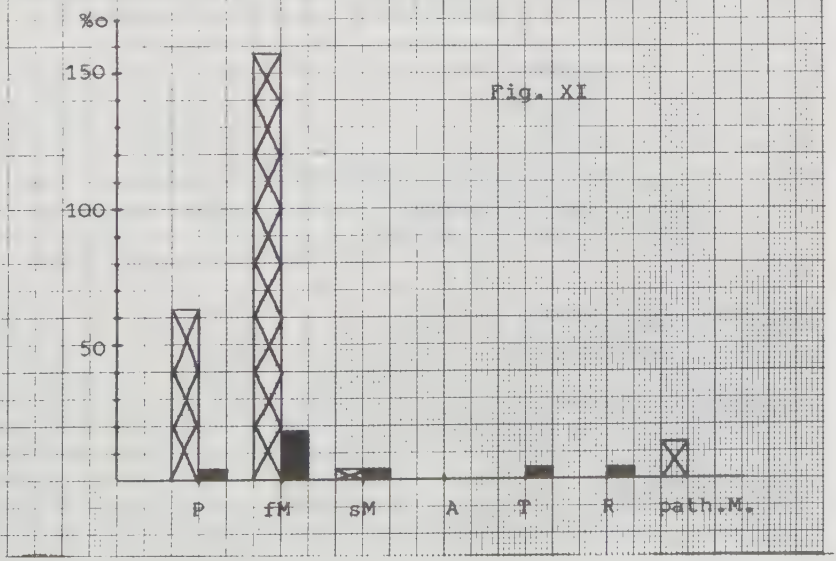


Fig. XI

Versuch XII: Phytohämagglutinin-Kultur des Venenblutes der Patientin K., 24 Jahre.

Diagnose: Inguinale LK-Schwellung bei Adnexitis.

Laborbefunde:

Leukozyten:	6500/µl	Erythrozyten:	3,75 Mio/µl
Segmentkernige:	46 %	Hb:	10,4 g%
Eosinophile:	4 %	HbE:	27,6 pg
Lymphozyten:	37 %		
Monozyten	13 %		

Erklärung zu den Abbildungen:

Abb. 23: Summenkurven aller gemessenen Zellkerne der Stichprobe.

Abb. 23a: Summenkurven aller gemessenen Zellkerne der Stichprobe mit Colcemid-Zusatz.

Abb. 24: Die verschiedenen, gemessenen Zellarten nach den gegebenen Zeitabständen:

Lymphozyten,
Lymphoidzellen,
Virozyten,
Stimulierte Lymphozyten,
Immunoblasten,
Retikulumzellen.

Abb. 24a: nach dem 3. d

Abb. 24b: nach dem 5. d

Abb. 24c: nach dem 7. d

Abszisse: Kerngrößendurchmesser in μ,

Ordinate: Häufigkeit in %.

PH = Phytohämagglutinin
C = Colcemid-Zusatz
d = Tage.

Versuch XII:

Aus den Summenkurven ohne C (Abb. 23) können wir in diesem Versuch wiederum das Entstehen von kleinen Zellen (Lymphozyten bzw. Immunozyten) aus den Immunoblasten beobachten. Die Summenkurven mit C (Abb. 23a) zeigen diese Entwicklung nicht.

Die Kurven der verschiedenen, gemessenen Zellarten zeigen auch hier einen ähnlichen Verlauf wie in den vorangegangenen Versuchen. In den Tageseinzeldarstellungen (Abb. 24 - 24c) sind die Ergebnisse der Versuche am 3. und 7. d mit und ohne Colcemid-Zusatz nahezu gleich. Am 5. d (Abb. 24b) sind die Zellkerne der Immunoblasten ohne C wieder kleiner als mit C-Zusatz.

Mitoseindices und Mitosephasen-Verteilung zeigen Tab. 12 und Fig. XII. Alle Mitosen der mit Colcemid versetzten Kultur haben im Gegensatz zur Kontrollkultur das Stadium der Metaphase nicht überschritten. Der Mitoseindex steigt bis zum 5. Kulturtag auf einen maximalen Wert von 54 ‰ an, fällt dann jedoch wieder ab.

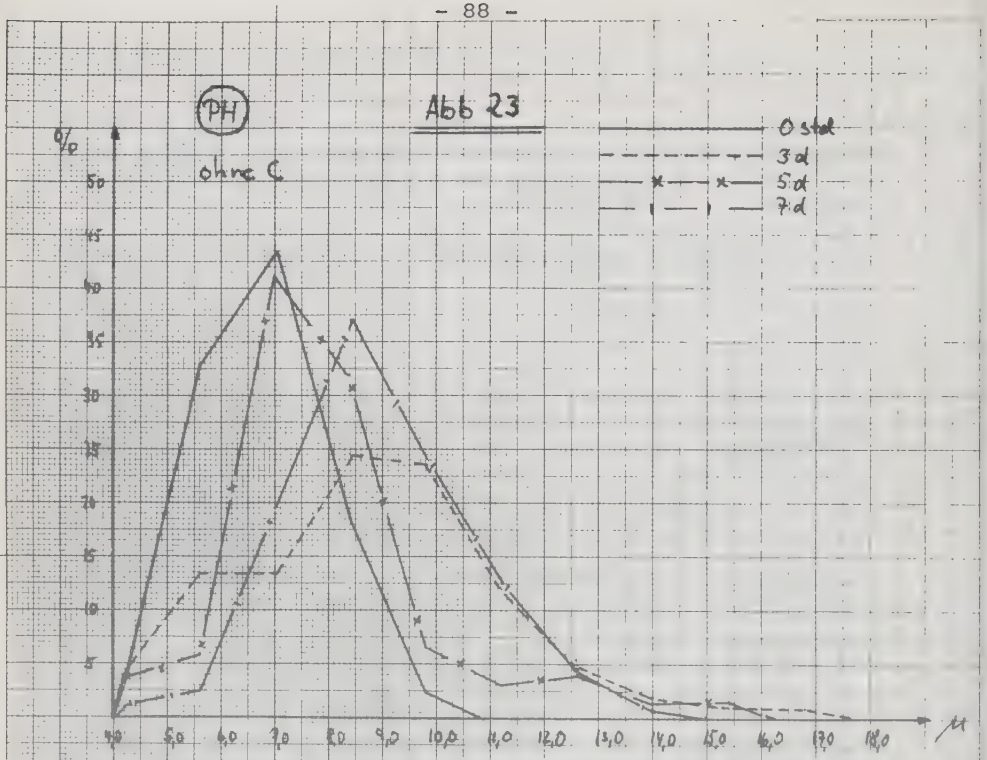


Abb 23

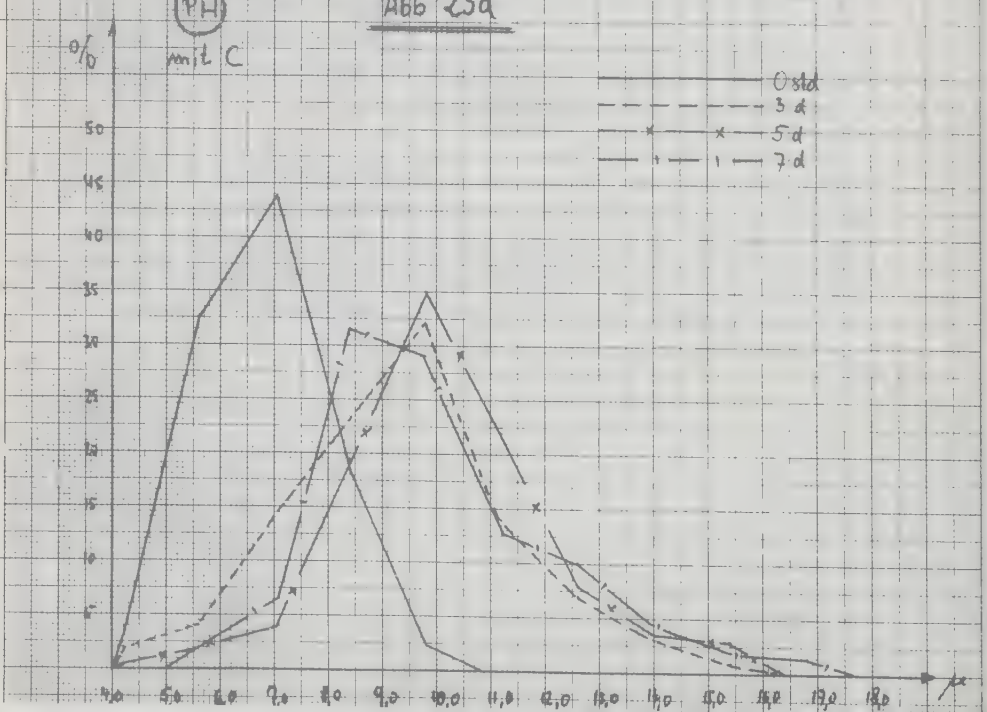


Abb 23a

Abb 24

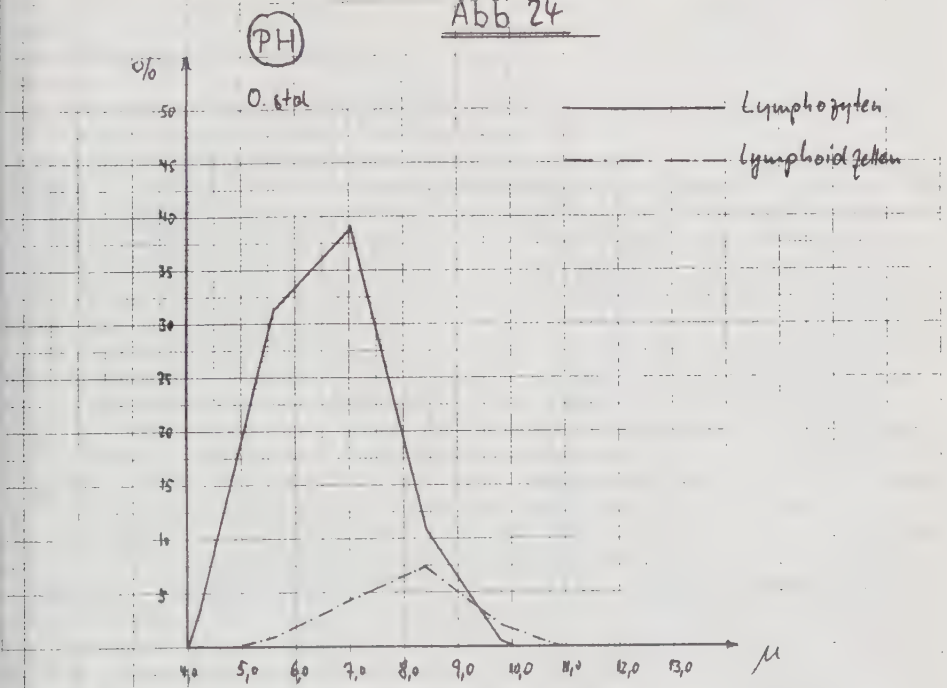


Abb 24a

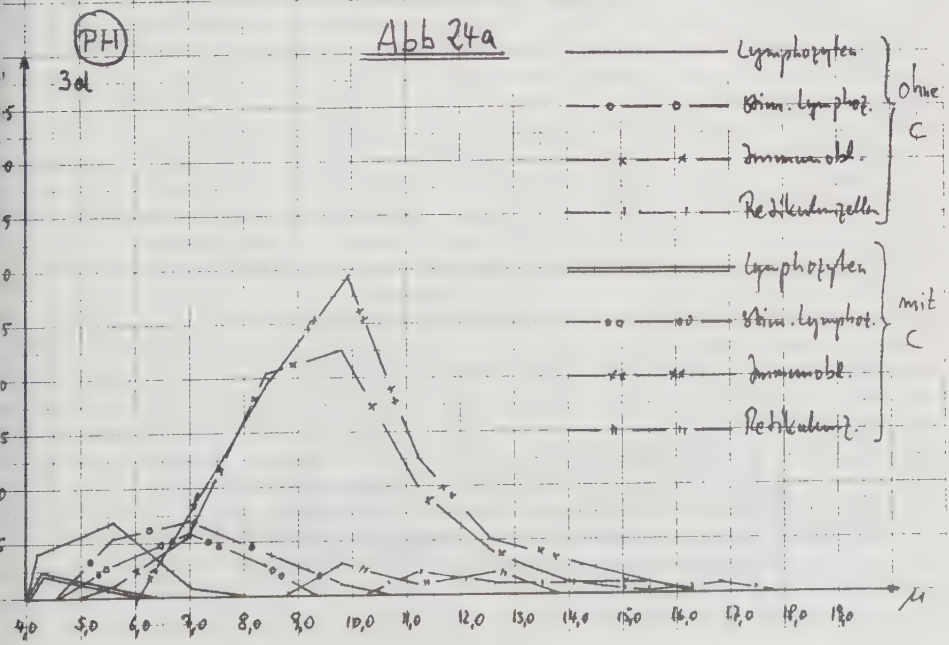


Abb 24b

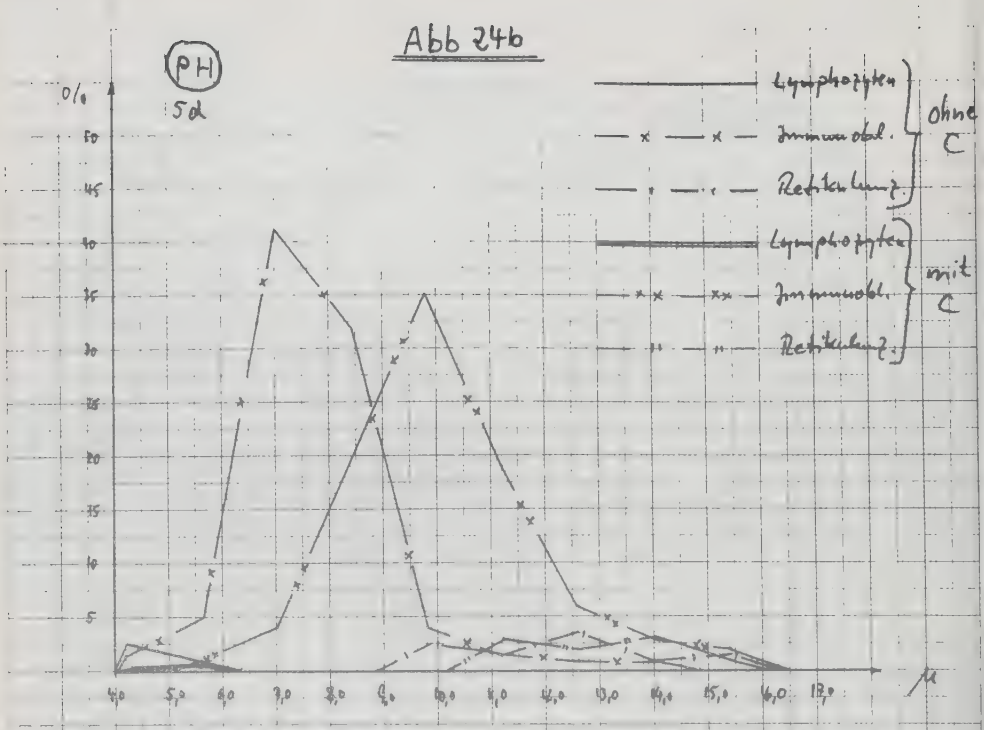
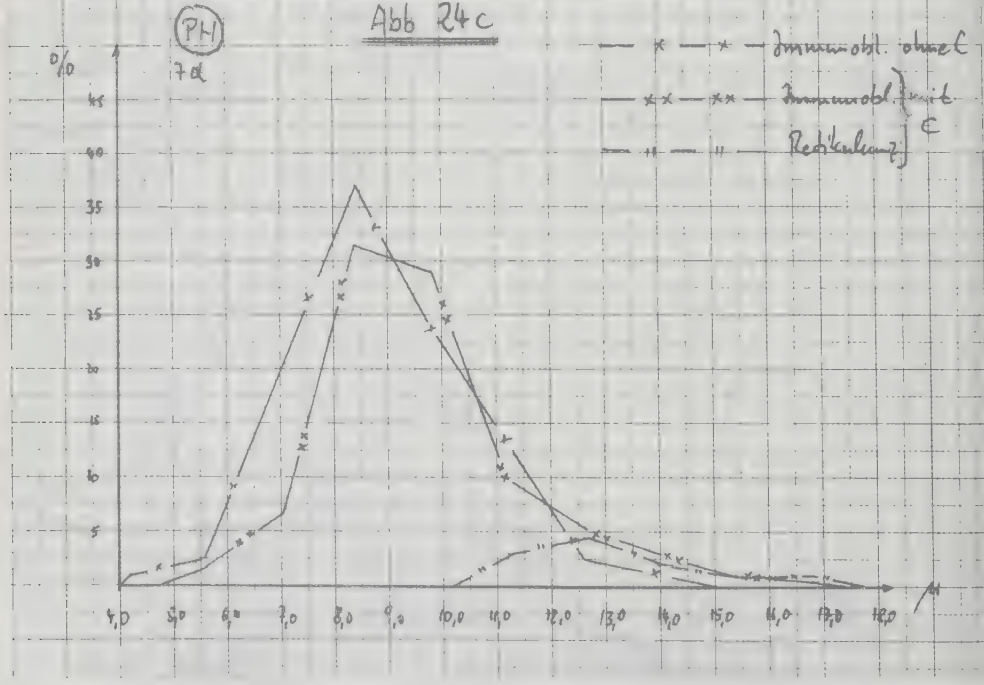


Abb 24c



mit C ⊠ ohne C ■

Tab. 12	3d	5d	7d	Mitosen insges.		3d	5d	7d	Mitosen insges.
Prophase	3	3	2	8		1	1	-	2
frühe Metaph.	6	7	5	18		1	2	-	3
späte Metaph.	-	-	-	-		-	-	1	1
Anaphase	-	-	-	-		-	-	-	-
Telophase	-	-	-	-		-	-	-	-
Rekonstr.-phase	-	-	-	-		-	-	1	1
pathol. Mitose	-	1	-	1		-	-	-	-
Mitosen	9	11	7			2	3	2	
Gesamt-zellzahl	200	201	215			204	244	244	
Mitose-index	45‰	54‰	32‰			9‰	12‰	8‰	

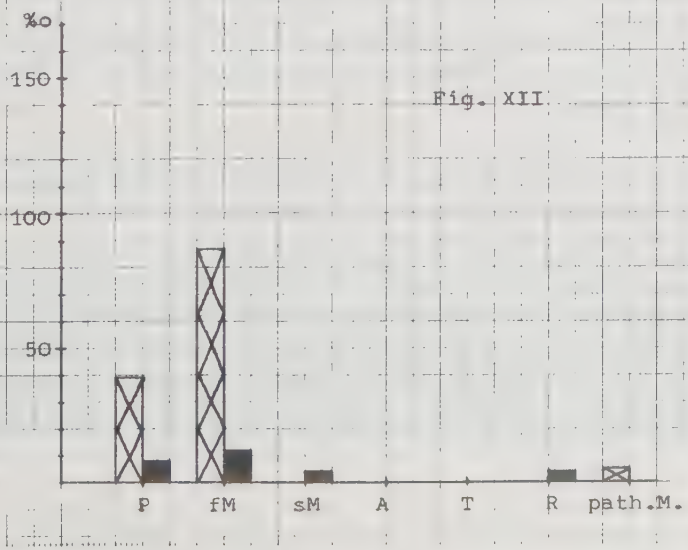


Fig. XII

Zusammenfassung der Ergebnisse

Nachdem jeder Versuch einzeln behandelt worden ist, wollen wir uns nun ein Gesamtbild verschaffen. Es wurden fünf Phytohämagglutinin-Kulturen ausgewertet (Versuche Nr. I, III, V, XI, XII) und folgende Ergebnisse festgestellt:

Im O-Std.-Präparat überwogen immer die Lymphozyten mit einem Kerndurchmesser von 5,6 - 7 µ . Am 3. Kulturtag kamen größere Zellkerndurchmesser zur Ansicht (8,4 - 11,2 µ). In den nicht mitosegehemmten Versuchen V und XII waren die Kerndurchmesser am 5. Tag, in den Versuchen I und III am 6. Tag und in dem Versuch XI am 7. Kulturtag wieder kleiner (5,6 - 8,4 µ), nahmen jedoch mit längerer Kulturdauer wieder an Größe zu (9,8 - 11,2 µ). Nur im Versuch V kamen am 10. Tag noch ein zweites Mal kleinere Zellkerne zur Beobachtung.

Die maximale Erhöhung des Mitoseindex war in den Versuchen V (= 104 %o), XI (= 126 %o) und XII (= 54 %o) am 5. Tag, in dem Versuch I (= 76 %o) am 6. Tag und im Versuch III (= 67 %o) am 8. Kulturtag zu beobachten.

Die Zellkernverkleinerung nach der Immunoblastenbildung konnte in den Versuchen mit Colcemid-Zusatz nicht festgestellt werden.

Außerdem wurden sieben Pokeweed-Mitogen-Kulturen untersucht (Versuche Nr. II, IV, VI, VII, VIII, IX, X), die ohne Mitosehemmung ebenfalls die Entstehung von kleineren Tochterzellen aus den Immunoblasten erkennen ließen. Die Zellkernverkleinerung war bis auf die Versuche VI (5. Tag) und VIII (5. und 7. Tag) immer am 6. Kulturtag festzustellen. Danach kamen wieder größere Zellen zur Beobachtung. Der Versuch IX ließ auch am 10. Tag noch einmal kleinere

Zellen erkennen. Die Gipfelpunkte der Zellkerngrößen glichen denen der PHA-stimulierten Kulturen, wenn auch prozentual weniger kleine Zellen (59 %) nach PWM-Stimulation zu finden waren.

Die Anzahl der Mitosen war in den Pokeweed-Mitogen- wie in den Phytohämagglutinin-Kulturen nach Colcemid-Zusatz gegenüber denen der Kontrollkulturen vermehrt. Die Mitoseindices zeigten in den PWM-Kulturen in dem Versuch VIII (83 %o) ihr Maximum am 5. Tag, in den Versuchen II (75 %o), VII (35 %o), IX (83 %o) und X (93 %o) am 6. Tag, in dem Versuch VI (95 %o) am 7. Tag und im Versuch IV (98 %o) am 8. Kulturtag.

Ebenso wie in den Phytohämagglutinin-Kulturen war auch in den Pokeweed-Mitogen-Kulturen nach Colcemid-Zusatz eine Zellkernverkleinerung bei längerer Kultivierungszeit nicht zu erkennen.

In allen zwölf Versuchen ohne Colcemid-Zusatz (Kontrollkulturen) betrug nach 5 - 7 Kulturtagen der Prozentsatz an neugebildeten kleinen Zellen im Durchschnitt 73 %.

Diskussion

Wir untersuchten fünf Phytohämagglutinin- und sieben Pokeweed-Mitogen-Kulturen von Patienten, die immunologisch nicht erkrankt waren und von zwei Patienten mit Morbus Pfeiffer und zwei Patienten mit einem Lymphosarkom. Das Ziel war, anhand von Kerngrößenmessungen die Proliferation der induzierten Immunoblasten zu kleineren Tochterzellen nachzuweisen.

Durch den "Kunstgriff" der Mitosehemmung mit Demecolcin (Colcemid) wurden die Mitosen in der Hälfte der Kulturen angereichert (1, 3, 4, 11, 40): Dadurch waren die Mitoseindices in den Colcemid-Kulturen gegenüber denen der Kontrollkulturen erhöht. Schon am 3. Kulturtag waren vermehrt Mitosen nachzuweisen. Ihre Anzahl vermehrte sich weiter zwischen dem 5. und 6. Tag bis zu einem Maximum von 126 ‰ (Versuch XI) und fiel dann wieder ab.

Es stellt sich nun die Frage, ob der Grad der Erhöhung des Mitoseindex als Ausdruck der Proliferationsaktivität der Immunoblasten anzusehen ist. Ferner ist zu überlegen, inwieweit tatsächlich alle Immunoblasten-Mitosen durch Colcemid gehemmt wurden, oder ob möglicherweise bei einigen Immunoblasten der Mitoseablauf nicht beeinflußt wurde.

Geht man mit ASTALDI von der Voraussetzung aus, daß Colcemid auf den Eintritt der Zelle in die Mitose keinen Einfluß nimmt (4), daß es vielmehr nur die Spindelbildung und damit den vollständigen Ablauf der Mitose verhindert (DUSTIN, LETTRÉ), so ist anzunehmen, daß sämtliche Immunoblasten-Mitosen erfaßt sind. Der Höchstwert der Mitoseindices ist unter diesen Voraussetzungen als Maß für die Mitosehäufigkeit und somit auch für die Prolife-

rationsaktivität der Immunoblasten zu betrachten (BOLL). Wäre die mitosehemmende Wirkung des Colcemids nicht auf alle Immunoblasten vollständig erfolgt, so müßten in unseren Colcemid-Kulturen auch spätere Mitosephasen zur Ansicht gekommen sein. Tatsächlich aber hatten alle vorkommenden Mitosen das Stadium der Metaphase nicht überschritten oder zeigten pathologisch verklumpte Mitosen. Deswegen ist anzunehmen, daß nach der Zugabe des Demecolcins am 2. Kulturtag die Mitosehemmung bis zum Kulturende alle vorkommenden Mitosen erfaßt hat. Nach den Ausführungen in der Einleitung (Seite 7) entstehen aus den Colcemid-Mitosen niemals fortpflanzungsfähige isoplastische Tochterzellen, vielmehr sterben die gehemmten Mitosen nach mehreren Stunden bzw. Tagen lebhafter Cytoplasma-Kontraktionen ab oder sie teilen sich pathologisch, d.h. es kommt zu kernlosen Cytoplasma-Absprengungen (BOLL).

In unseren Versuchen wurden die durch Phytohämagglutinin und Pokeweed-Mitogen stimulierten Zellen anhand von Kernmessungen und morphologischen Merkmalen klassifiziert, um die Transformation der durch PHA und PWM induzierten Immunoblasten zu kleineren Tochterzellen, wie sie TSUTSUI (44), MARSHALL und ROBERTS (34) und JONASSON (29) beschrieben, zu überprüfen. Durch die Mitosehemmung mit Colcemid wurde die Zellteilung der Immunoblasten blockiert, und die Entstehung von kleineren Zellen müßte unterbunden sein, wenn es sich bei diesen um Nachkommen der großen Immunoblasten handelt, denn bei der Degeneration der Immunoblasten während der Mitose entfallen die Folgegenerationen. In den durch PHA und PWM stimulierten Kulturen ohne Colcemid-Zusatz hingegen müßte sich die postulierte Teilung der Immunoblasten zu kleinen Zellen wie bei JONASSON nachweisen lassen.

In den zwölf Kontrollversuchen konnten wir die Entstehung von kleineren Tochterzellen aus den großen Immunoblasten

sowohl in den Phytohämagglutinin- als auch in den Pokeweed-Mitogen-Kulturen zwischen dem 5. und 7. Kulturtag durch Kerngrößenmessungen bestätigen. Das Auftreten von entsprechend kleinen Zellen fehlte in allen stimulierten PHA- und PWM-Kulturen mit Colcemid-Zusatz.

Um die Entwicklungsfähigkeit der Immunoblasten und ihrer kleinen Tochterzellen darzustellen, wird nun versucht, unsere Meßergebnisse mit den Angaben von LEIBETSEDER (30) bezüglich der Jacobj'schen Kernklassen zu vergleichen. Die von Jacobj im Ausstrichpräparat gewonnenen Kerndurchmesser bzw. Kernvolumina sind aus der unten stehenden Tabelle ersichtlich. Danach verändert sich bei Halbierung der Volumina der Kern- bzw. Kugeldurchmesser wie folgt:

K 2 : 12,60 μ und 1047,0 μ^3		K 1/4 : 6,30 μ und 130,8 μ^3	
K 1 : 10,00 μ und 523,5 μ^3		K 1/8 : 5,00 μ und 65,4 μ^3	
K 1/2: 7,94 μ und 261,7 μ^3		K 1/16: 3,96 μ und 32,7 μ^3	

Ordnen wir unsere gemessenen Zellkerngrößen in die Jacobj'sche Kernklasseneinteilung ein, so kommen wir zu folgenden Überlegungen:

Die Lymphozyten-Kerndurchmesser entsprechen der Kernklasse K 1/4, einige Lymphozyten sind auch in die Klasse K 1/8 einzuordnen. Die Kerndurchmesser der Virozyten sowie der stimulierten Lymphozyten gehören ebenfalls in die Klasse K 1/4. Die Lymphoidzellen sowie die kleineren Immunoblasten sind in die Klasse K 1/2, die größeren Immunoblasten und die kleinen Retikulumzellen in die Klasse K 1 und letztlich die größeren Retikulumzellen in die Klasse K 2 einzuordnen.

Nach den vorgelegten Meßergebnissen ist also denkbar, daß aus den großen Immunoblasten der Kernklasse K 1 Lympho-

zyten bzw. Immunozyten der Kernklasse K 1/4 entstehen, wenn sich die großen Immunoblasten (9,8 - 11,2 μ) in kleine (8,4 μ) und diese sich wiederum in noch kleinere (5,6 - 7 μ) teilen (Versuche Nr. I, V, VI, VIII, IX, XI, XII). Somit sind in unseren PHA- und PWM-Kulturen drei Zellgenerationen zu vermuten. Diese Annahme wird unterstützt durch die Angaben von TSUTSUI (44) und MARSHALL und ROBERTS (34), die in PHA-stimulierten Kulturen im Laufe von acht Tagen mindestens vier Zellgenerationen annehmen.

Bei Hemmung der Immunoblastenmitosen durch Colcemid bleibt die Entstehung von kleineren Zellen während der gesamten Kultivierungszeit aus. Dies bestätigt die Vermutung, daß die in unseren Kontrollversuchen nach 5 - 7 Tagen auftretenden kleinen Zellen Tochterzellen der großen Immunoblasten sind.

Somit bestätigen unsere Ergebnisse die Angaben von AMBS, TSUTSUI, MARSHALL, COOPER und ELVES und WILKINSON, daß aus den Immunoblasten wieder kleine Immunozyten bzw. Lymphozyten hervorgehen können. Diese neugebildeten Zellen (Lymphozyten bzw. Immunozyten) werden von WIENER und Mitarbeiter (1964) als etwas größer und basophiler als die üblichen kleinen Lymphozyten beschrieben (31). Unsere Ergebnisse stimmen mit dieser Beobachtung überein.

Von Interesse ist nun, ob die neu entstandenen kleinen Tochterzellen noch weiter entwicklungsfähig sind, oder ob sie, wie von einigen Autoren beobachtet, nach mehreren Stunden degenerieren.

In unseren Versuchen ohne Colçemid-Zusatz konnten wir wie JONASSON in Kulturausstrichen vom 8. - 10. Tag wieder vor-

wiegend größere Zellen beobachten. Es liegt daher die Vermutung nahe, daß die am 5. - 7. Tag neu entstandenen kleinen Zellen durch Phytohämagglutinin bzw. Pokeweed-Mitogen erneut zum Wachstum angeregt wurden, um sich möglicherweise zu einem späteren Zeitpunkt wiederum zu teilen, denn in unseren Versuchen kamen auch noch Mitosen am 8. und 10. Kulturtag vor. Somit könnte die zweite Entstehung von kleineren Zellkernen am 10. Kulturtag in den Versuchen V und IX ihre Erklärung finden. Hierzu ist auch die Aussage von BRUCH (13) interessant. Dieser Autor stellt fest, daß die Transformationsfähigkeit nach drei Tagen in stärkerem Maße vorhanden ist, sobald man Phytohämagglutinin nach zwei Tagen Kulturdauer nochmals zugibt. In diesem Fall sollen nach fünf Tagen neugebildete Lymphozyten verstärkt auftreten.

Interessant ist weiterhin die Tatsache, daß besonders bei PWM-Stimulation die Kerne der größeren Immunoblasten in den Kulturausstrichen mit und ohne Colcemid-Zusatz ein immer mehr retikuläres Aussehen (20 %) annehmen. Es wäre denkbar, daß aus den PHA- bzw. PWM-stimulierten Immunoblasten Retikulumzellen entstehen können, was bedeuten würde, daß der Lymphozyt fähig ist, sich bis zum Ausgangspunkt der Hämatopoese umzuwandeln. Dieser Gedanke ist nicht neu. Solche Überlegungen stammen schon von älteren Autoren, vor allem von MAXIMOW (36), AWROROW und TIMOFEJEWSKI (6) und YOFFEY (46).

ASTALDI (5) interpretiert die Transformation der Lymphozyten zu basophilen Lymphoblasten als eine Art Rückdifferenzierung zu einer Stammzelle des lymphozytären Systems. Er vermutet ebenfalls die Rückdifferenzierung des Lymphozyten zu einer primitiven Stammzelle des hämatopoetischen Systems. Auch HEILMEYER (28) zieht in Erwägung, daß

Lymphozyten oder lymphozytenähnliche Zellen als Stammzellen mit omnipotenten Fähigkeiten hinsichtlich der Blutzellbildung fungieren können.

Zweifelsohne kann der Lymphozyt nicht mehr als eine endgültig differenzierte Zellform, d.h. als eine Zelle ohne Fähigkeit zur Umwandlung, angesehen werden. Vielmehr zeigt er zumindestens in vitro eine morphologisch ausgeprägte Transformationsfähigkeit. Zukünftige Untersuchungen werden die Transformationsfähigkeit des Lymphozyten auch im Hinblick auf seine Rückbildung bis zur Stammzelle der Hämatopoese belegen müssen.

Abschließend soll noch erwähnt werden, daß sich die Blutkulturen von den Patienten mit Morbus Pfeiffer und den Patienten mit einem Lymphosarkom in ihrer Stimulierbarkeit und Transformationsfähigkeit wie die immunologisch normalen Kulturen verhielten.

Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden Kerndurchmesserbestimmungen an fünf Phytohämagglutinin- und sieben Pokeweed-Mitogen-stimulierten Blutkulturen bis zum 10. Kulturtag durchgeführt. Die Blutproben stammen von fünf Patienten, die immunologisch nicht erkrankt waren, von zwei Patienten mit Morbus Pfeiffer und zwei Patienten mit einem Lymphosarkom.

Die durch Phytohämagglutinin und Pokeweed-Mitogen stimulierten Zellen wurden anhand von Kernmessungen und morphologischen Merkmalen klassifiziert. Die Teilungshäufigkeit der durch Phytohämagglutinin (PHA) und Pokeweed-Mitogen (PWM) induzierten Immunoblasten wurde festgestellt. Durch die Blockierung der Zellteilung mit dem Mitosegift Demecolcin (Colcemid) wurde geprüft, ob die Transformation der Immunoblasten zu kleineren Tochterzellen unterbunden werden kann.

Nach drei Kulturtagen hatten sich fast alle Lymphozyten (90 %) in stimulierte Lymphozyten und Immunoblasten umgewandelt.

In allen zwölf Versuchen konnte in der Kultur ohne Colcemid-Zusatz die Entstehung von kleineren Tochterzellen (Lymphozyten bzw. Immunozyten) aus den Immunoblasten nach 5 - 7 Kulturtagen bestätigt werden. Der Kerngröße nach müßten dem zwei mitotische Teilungen vorausgegangen sein, so daß wir in der Phytohämagglutinin- und Pokeweed-Mitogen-Kultur drei Zellgenerationen vermuten. In den länger durchgeführten Versuchen konnten wir eine weitere interessante Erscheinung bestätigen: Die neugebildeten Lymphozyten bzw. Immunozyten nahmen in einem zweiten Wachstumsschub wieder an Größe zu. Diese Ergebnisse fehlen in entsprechend mit PHA- und PWM-stimulierten Kulturen, wenn ihnen nach zwei Tagen das Mitosegift Demecolcin (Colcemid) zugesetzt wurde.

Die Ähnlichkeit der großen Immunoblasten mit den Retikulumzellen warf die Frage auf, ob die Lymphozyten sich eventuell bis zum Ausgang des hämatopoetischen Systems entwickeln könnten.

Literaturverzeichnis

1. Albrecht, M.: Untersuchungen über die mitosehemmende Wirkung von Demecolcin auf menschliches Knochenmark in vitro. Acta Haematol. 13, 8 (1955).

2. Albrecht, M. und Boll, I.: Untersuchungen über die Einwirkung von Colchicin, arseniger Säure, Stickstofflost und Aethylurethan auf menschliches Knochenmark in vitro. Ärztl. Wschr. 5, 485 (1950).

3. Ambs, E.: Die Lymphozytenkultur und ihre Beziehung zu klinischen Problemen. Klin. Wschr. 15, 789 (1969).

4. Astaldi, G. und Mauri, C.: La valutazione dell'attività proliferativa delle cellule midollari. Studio di un "Test Statmocinetico". Haematologica 33, 13 (1949).

5. Astaldi, G.: Phytohämagglutinin und das Problem der Lymphozyten. Med. Klin. 59, 368 (1964).

6. Awrorow, P.P. und Timofejewski,A.D.: Kultivierungsversuche von leukämischem Blute. Virch. Arch. path. Anat. 216, 184 - 214 (1914).

7. Boll, I.: Granulocytopoese unter physiologischen und pathologischen Bedingungen. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 196

8. Boll, I.: Bewegungsstudien an nicht stimulierten und stimulierten Lymphozyten sowie Retothelsarkomzellen.
Sonderdruck aus Leukozytenkulturen, Verhandlungsbericht der 2. Arbeitstagung über Leukozytenkulturen, Essen 1970.
Hrsg.: G. Brittinger und H.J. Roggenbach. F.K. Schattauer-Verlag, Stuttgart-New York 1971, S. 19.

9. Boll, I., Kretschmer, V. und Fliedner, T.M.: Kinematographische Dokumentation einer amitotischen Zellteilung.
Zschr.f.Zellforschung 83, 1 (1967).

10. Boll, I.: Beeinflussung der Erythro- und Leukopoese durch die Mitosegifte Colchicin und Xanthopterin in vitro.
Acta Haematol. 9, 185 (1953).

11. Boll, I.: Über die Einwirkung von Mitosegiften auf menschliches Knochenmark in vitro.
Verh. d. Deutsch. Ges. f. inn. Med. 58, Kongr. 1952, Nr. 158.

12. Brittinger, G.: Die Lymphozytenkultur als In-vitro Modell immunologischer Vorgänge.
In: Pietschmann, H. (Hrsg.): Der Lymphozyt. Verlag der Wiener Med. Akademie, Wien, 1972, S. 297.

13. Bruch, C.: Kinetics of lymphocyte transformation in relation to the duration of exposure to phytohaemagglutinin (PHA) in vitro. First Meeting European Division International Society Haematology, Milano 10. - 12. September 1971.

14. Chessin, L.N., Börjeson, J.: Welsh. P.D., Douglas, S.D. und Cooper, H.L.: Studies on human peripheral blood lymphocytes in vitro. II. Morphological and biochemical Studies on the transformation of lymphocytes by pokeweed mitogen. J. Exptl. Med. 124, 873 (1966).

15. Cohnen, G.: Lymphozyten-Populationen bei chronischer lymphytischer Leukämie. Fortschr. Med. 93, 71 (1975).

16. Cooper, E.H.: Lymphocytes in culture. Brit. J. Haemat. 304 (1964).

17. Dameshek, W.: "Immunoblasts" and "Immunocytes"- an attempt at a functional nomenclature. Blood 21, 234 (1963).

18. Douglas, S.D., Hoffmann, P.F., Börjeson, J. und Chessin, L.N.: Studies on human peripheral blood lymphocytes in vitro: III. Fine structural features of lymphocyte transformation by pokeweed-mitogen. J. Immunol. 98, 17 (1967).

19. Douglas, S.D.: Human lymphocyte growth in vitro: Morpholoc, biochemical, and immunologic significance. Int. Rev. exp. Path. 10, 41 (1971).

20. Dustin, A.P.: Contribution à l'étude de l'action des poisons caryo classiques sur les tumeurs animales; action de la colchicine sur le sarcome greffé, type Crocker, de la souris.
Bull. Acad. roy. de med. de Belgique 14, 487 - 502, 1934.

21. Elves, E.W., and Wilkinson, J.F.: Effects of phytohaemagglutinin on the morphology of cultured leucocytes.
Nature (Lond.) 194, 1257 (1962).

22. Evans, H.J., Neary, G.J. and Tonkinson, S.M.: The use of colchicine as an indicator of mitotic rate in bread bean roof meristems.
J. of Genetics, 55, 487 (1957).

23. Greaves, M., Owen, J.J.T., and Raff, M.C.: T and B Lymphocytes: Origins, Properties, and Roles in Immune Responses.
Amsterdam: Excerpta Medica; New York: American Elsevier 1973 VII, 316 S.

24. Greaves, M., Janossy, G.: Elicitation of selective T and B lymphocyte responsesby cell surface binding ligands.
Transplant. Rev. 11, 87 (1972).

25. Greaves, M., Janossy, G., and Doenhoff, M.: Activation of human T and B lymphocytes by polyclonal mitogens.
Nature London 248, 698 (1974).

26. Gropp, A. und Fischer, R.: Ergebnisse der Züchtung von Lymphozyten in vitro. Klin. Wschr. 12, 665 (1966).

27. Gropp, A. und Fischer, R.: Cytologische und cytochemische Untersuchungen an normalen und leukämischen in vitro gezüchteten Blutzellen. Klin. Wschr. 42, 3 (1964).

28. Heilmeyer, L.: Praktische Hämatologie, 5. Auflage (1966).

29. Jónasson, J.: Kernmessungen an Phytohämagglutinin-Kulturen. Dissertation Berlin 1973.

30. Leibetseder, F.: Erythropoese und Zellkerngröße Wien. Zschr. inn. Med. 29, 397 (1948).

31. Lennert, K.: Bildung und Differenzierung der Blutzellen, insbesondere der Lymphozyten. Verhdlg. d. dtsch. Gesellsch. f. Pathologie, 50. Tagung, Heidelberg 1966, S. 163.

32. Lettré, H.: Über die Abhängigkeit der Colchicinwirkung von der Adenosintriphosphorsäure. Erg. Physiol. 46, 397 (1950): Naturw. 38, 547 (1951).

33. Ludford, R.J.: The Action of Toxid Substances upon the Division of Normal and Malignant Cells in vitro and in vivo.
Arch. exp. Zellforsch. 18, 411 (1936).

34. Marshall, W.H., and Roberts, K.B.: Contineous cinematography of human lymphocytes cultured with a phyto-haemagglutinin including observations on cell division and interphase.
Quart. J. exp. Physiol. 50, 361 (1965).

35. Marshall, W.H., and Roberts, K.B.: The growth and mitosis of human small lymphocytes after incubation with phytohaemagglutinin.
Quart. J. exp. Physiol. 48, 146 (1963).

36. Maximow, A.: Der Lymphozyt als gemeinsame Stammzelle der verschiedenen Blutelemente in der Entwicklung und im postfetalen Leben der Säugetiere.
Fol. haemat. (Loz.) 8, 125 (1909).

37. Nowell, P.C.: Phytohaemagglutinin: An Initiator of Mitosis in Cultures of Normal Human Leucocytes.
Cancer Res. 20, 462 (1960).

38. Powell, A.K.: Colchicine-Type Metaphases in He La Carcinoma Cells.
Nature, London 194, Nr. 4823, 109 (1962).

39. Robbins, J.H.: Tissue culture studies of human lymphocytes. Experiments under controlled conditions provide new information on this cell's function and potentiality. Science 146, 1648 (1964).

40. Schär, B., Loustalot, P. und Gross, F.: Demecolcin (Substanz F), ein neues, aus Colchicum autumnale isoliertes Alkaloid mit starker antimitotischer Wirkung. Klin. Wschr. 32, 49 (1954).

41. Stubblefield, E.: DNA synthesis and chromosomal morphology of Chinese Hamster cells cultured in media containing N-Deacetyl-N-Metyl-colchicine (Colcemid). Symp. of Intern. Soc. Cell Biol., 3, 223 (1964).

42. Taylor, E.W.: The Mechanism of Colchicine inhibition of Mitosis. J. Cell Biol., 25, 145 (1965).

43. Thomson, A.E.R. u. Robinson, M.A.: Cytocidal action of Colchicine in vitro on Lymphocytes in Chronic Lymphocytic Leukaemia. Lancet, 21, 868 (1967).

44. Tsutsui, I.: A concept on Lymphogonia (Immunoblasts) based on the origin and fate of Phytohaemagglutinin-induced blast cells from human peripheral blood in vitro.
I. Cellular kinetics.
II. A model of Phytohaemagglutinin-induced lymphocytopoiesis in vitro.
III. A phase-contrast-microscopic study.
Acta. haemat. Jap. 30, 865 (1967).

45. Yoffey, J.M., Winter, G.C.B., Osmond, D.G., and Meek, E.S.: Morphological studies in the culture of human leucocytes with phytohaemagglutinin. Brit. J. Haemat. 11, 488 (1965).

46. Yoffey, J.M.: The present status of the lymphocyte problem. Lancet 1962 I, 206.

47. Entwicklungsreihe der T-Lymphozyten aufgeklärt. Aus Ärztl. Praxis XXVI, 2510 (1974).

Mein aufrichtiger Dank gilt Frau Professor Dr.med.
I. BOLL für die Überlassung des Themas, sowie für ihre bereitwillige Hilfe bei der Fertigstellung dieser Arbeit.

L e b e n s l a u f

Am 10. Juni 1947 wurde ich als Sohn des kaufm. Direktors Werner Coppée und seiner Ehefrau Rosemarie in Berlin geboren. - Ich wuchs in Berlin auf und wurde Ostern 1953 in die Dreilindenschule in Berlin-Wannsee eingeschult.

Ab Herbst 1961 besuchte ich das Pädagogium in Bad Sachsa, wo ich am 28. Juni 1967 mit der Reifeprüfung meine Schullaufbahn abschließen konnte.

Am 17. November 1967 wurde ich zum Studium der Zahnmedizin an der Freien Universität Berlin immatrikuliert. Nach zwei Semestern habe ich am 9. September 1968 an dieser Hochschule die naturwissenschaftliche Vorprüfung bestanden. Nach weiteren vier Semestern konnte ich am 12. Oktober 1970 das vorklinische Studium mit der zahnärztlichen Vorprüfung erfolgreich beenden.

Nach abgeschlossenem klinischen Studium, ebenfalls an der FU Berlin, bestand ich im Juli 1973 das zahnmedizinische Staatsexamen.

Seit dem 1. November 1973 bin ich als Assistenz-Zahnarzt tätig.

Rolf Coppée